



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

IARA SANT'ANA RODRIGUES

**ANÁLISE DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B,
CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 E *GSTT1**0 EM
PACIENTES PORTADORES DE CARCINOMA DE
PRÓSTATA**

IARA SANT'ANA RODRIGUES

**ANÁLISE DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B,
CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 E *GSTT1**0 EM
PACIENTES PORTADORES DE CARCINOMA DE
PRÓSTATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Ilce Mara de Syllos Cólus

Londrina
2009

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R696a Rodrigues, Iara Sant'Ana. Análise das variantes polimórficas CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, GSTM1*0 e *GSTT1**0 em pacientes portadores de carcinoma de próstata / Iara Sant'Ana Rodrigues. – Londrina, 2009. 111 f. : il.

Orientador: Ilce Mara de Syllos Cólus.
Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2009.
Inclui bibliografia.

1. Próstata – Câncer – Aspectos genéticos – Teses. 2. Polimorfismo (Genética) – Teses. 3. Oncologia – Epidemiologia – Teses. 4. Histopatologia – Teses. I. Cólus, Ilce Mara de Syllos. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Instituto Agrônômico do Paraná. IV. EMBRAPA. V. Título.

IARA SANT'ANA RODRIGUES

**ANÁLISE DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B, CYP1B1*2,
CYP3A4*1B, GSTM1*0 E GSTT1*0 EM PACIENTES PORTADORES DE
CARCINOMA DE PRÓSTATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Profa Dra Regina Célia Poli-Frederico
UNOPAR – Londrina - PR

Prof Dr. Luiz Gonzaga Esteves Vieira
IAPAR – Londrina - PR

Profa. Dra. Ilce Mara de Syllos Cólus
UEL – Londrina - PR

Londrina, 27 de fevereiro de 2009

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho
Aos meus pais, Sérgio e Marli, por tudo que fizeram
por mim, pelo amor que me dedicam sempre e
pela confiança*

*À Ieda, Aparecida e Marlene que me estimularam
em todos os momentos*

AGRADECIMENTOS

É com grande satisfação que escrevo aqui meus sinceros agradecimentos a todos que, de alguma forma, me ajudaram a alcançar mais esta etapa da minha vida. Obrigada a todos vocês:

À *Profa. Dra. Ilce Mara de Syllos Cólus*, pela oportunidade e orientação conferida, além da amizade e apoio.

À *Profa. Dra. Regina Célia Poli-Frederico* e ao *Prof. Dr. Luiz Gonzaga Esteves Vieira* por participarem da minha banca de defesa. Obrigada por terem aceitado analisar e avaliar este trabalho. Minha grande admiração.

A todos os indivíduos e instituições envolvidos neste estudo, sobretudo aos *Drs. Paulo Emílio Fuganti, Émerson Pereira Gregório, Marina O. Kishima, Kazuhiro Ito e Marco Aurélio de Freitas Rodrigues*, cuja ajuda foi fundamental para realização deste trabalho.

Ao Hospital do Câncer de Londrina (HCL), UROLIT (PR), CISMENPAR (Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paranapanema), Irmandade Santa Casa de Londrina, Universidade Estadual de Londrina, aos funcionários, que contribuíram com seu auxílio e infraestrutura. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

À *Dra. Roberta Losi-Guembarovisk*, pela amizade, disponibilidade e auxílio neste trabalho.

Aos homens que, como pacientes ou controles, constituíram os dados da pesquisa e tornaram possível esta investigação.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular e aos demais professores do Departamento, pelo conhecimento transmitido e ajuda durante todas as etapas do Mestrado. A todos os meus amigos do curso de Pós-Graduação em Genética,

principalmente, *Clelton, Juliana, Marcela, Rafael*, por me acolherem, pelo carinho e grande amizade.

Aos amigos do Laboratório de Mutagênese e Oncogenética, *Mariana, Juliana Mara, Nathália, Priscila Matos, Matheus, Heloisa, André, Milene* pela colaboração, ajuda na parte laboratorial, diversão, companheirismo e conselhos. À *Hellen*, pelas dicas, sugestões para que este trabalho fosse concluído e também pela ótima e divertida companhia durante as coletas, cursos e no laboratório

À *Sueli*, secretária do Programa, pela amizade e paciência.

Aos técnicos *Dário e Melissa*, pela disposição e dedicação A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho: muito obrigada!

Em especial...

À minha família, pela confiança e pelo carinho de sempre. E por me receber tão bem sempre que eu voltava para casa, *Cosmorama*.

À minha irmã, *Ieda*, pelo carinho, companheirismo e amor, principalmente, neste último ano, pelo apoio e paciência. Amo-te eternamente. À minha avó, *Aparecida* e a minha tia, *Marlene*, que sempre acreditam e apóiam as minhas decisões

Aos meus pais, *Sérgio e Marli*, por tudo que fizeram por mim, pelo amor que me dedicam sempre. Vocês são tudo na minha vida.

*“Deus nos fez perfeitos e não
escolhe os capacitados, capacita os
escolhidos. Fazer ou não fazer algo só
depende de nossa vontade e perseverança”*

Albert Einstein

RODRIGUES, Iara Sant'Ana Rodrigues. **Análise das variantes polimórficas CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, GSTM1*0 e GSTT1*0 em pacientes portadores de carcinoma de próstata.** 2008.111 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

RESUMO

O perfil de morbimortalidade por câncer de próstata tem se alterado nas últimas décadas, configurando-se como um sério problema de saúde pública mundial. Esta neoplasia é uma doença associada com a idade, com pico de incidência por volta da sétima década de vida e se constitui na segunda causa de morte por câncer em homens. São múltiplos os fatores que contribuem para o seu desenvolvimento: dieta, suscetibilidade hereditária e alterações genéticas adquiridas. Um dos fenômenos relevantes na suscetibilidade herdada é a presença de variantes polimórficas em genes envolvidos no metabolismo de drogas, que pode aumentar, reduzir ou inativar as enzimas por eles codificadas, interferindo no metabolismo de carcinógenos e hormônios andrógenos. Para definir possíveis associações com o câncer de próstata, cinco variantes polimórficas (CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, GSTM1*0 e GSTT1*0) foram estudadas em 170 pacientes que passaram por prostatectomia radical com confirmação histopatológica da doença. Foram avaliados também 170 controles com níveis de PSA normais (<2ng/mL), pareados aos pacientes quanto à idade e hábitos tabagista e etilista. O DNA do sangue periférico foi analisado através de PCR-alelo específica para os genes CYP1A1 e CYP1B1, PCR-RFLP para o gene CYP3A4 e PCR-Multiplex para os genes GSTT1 e GSTM1. O cálculo da OR (Odds ratio) e do intervalo de confiança (IC=95%) foi utilizado no estudo de associação e os testes do Qui-Quadrado, Fisher e Mann-Whitney na avaliação dos parâmetros histopatológicos. O estudo de associação caso-controle indicou ausência de associação positiva ou negativa para as seguintes variantes genéticas estudadas: CYP1A1*2B – OR=1,03, IC 95%= 0,64-1,66; GSTM1*0 – OR= 0,64, IC 95%=0,42-0,98; GSTT1*0 – OR= 1,03, IC 95%=0,64-1,66. A análise estatística apontou para uma associação positiva significativa das variantes CYP1B1*2 (OR=1,55, IC 95%=0,98-2,47) e CYP3A4*1B (OR=1,51, IC 95%=0,97-2,37) para o câncer de próstata, estando os resultados no limite da significância. A análise combinada dos genótipos mostrou associação positiva significativa para as combinações das variantes CYP1A1*2B, CYP1B1*2 e CYP3A4*1B (OR=2,55, IC 95%=1,08-5,99). A análise dos parâmetros histopatológicos com os genótipos de suscetibilidade não detectou diferenças estatisticamente significativas, exceto em relação a variante CYP1A1*2B para invasão perineural (p=0,0382), a variante GSTT1*0 isoladamente (p=0,0295) e em combinação com a variante GSTM1*0 (p=0,0251) e a combinação dessas duas variantes de fase II com a variante CYP3A4*1B (p=0,0291), mostraram estatisticamente significativas para grau histológico. Nossos resultados indicaram que algumas variantes polimórficas analisadas isoladamente ou em combinação podem influenciar no desenvolvimento e na progressão do câncer de próstata.

Palavras chave: CYP1A1. CYP1B1. CYP3A4. GSTM1 e GSTT1. Polimorfismo genético. Câncer de próstata

RODRIGUES, Iara Sant'Ana Rodrigues. **Analysis of polymorphic variants CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, GSTM1*0 and GSTT1*0 in carrying patients of prostate carcinoma**. 2008. 111 f. Dissertation (Master's degree in Genetics and Molecular Biology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

ABSTRACT

The profile of morbidity and mortality for prostate cancer has changed in recent decades, and become a serious public health problem worldwide. This cancer is a disease associated with age, with peak incidence around the seventh decade of life and is the second cause of cancer deaths in men. There are many factors that contribute to its development: diet, inherited susceptibility and acquired genetic changes. One of the relevant phenomena of the inherited susceptibility is the presence of polymorphic variants in genes involved in drugs metabolism that may increase, reduce or inactivate the enzymes encoded by them, interfering with the metabolism of carcinogens and hormone androgen. To determine possible associations with prostate cancer, five polymorphic variants (CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 and *GSTT1**0) were studied in 170 patients who underwent radical prostatectomy with histopathological confirmation of the disease. We also evaluated 170 controls with normal PSA levels (<2ng/mL), matched to patients in age and smoking and alcohol habits. The DNA from peripheral blood was analyzed by PCR-allele specific for the CYP1A1 and CYP1B1 genes, PCR-RFLP for the CYP3A4 gene and Multiplex-PCR for the genes *GSTM1* and *GSTT1*. The OR (odds ratio) and confidence interval (CI = 95%) was used in the study of association and the Chi-square, Fisher and Mann-Whitney tests for the evaluation of histopathological parameters. The association case-control study showed absence of positive or negative association for the following studied genetic variants: CYP1A1*2B – OR = 1.03, 95% CI = 0,64-1,66; *GSTM1**0 – OR = 0.64, 95% CI = 0,42-0,98; *GSTT1**0 – OR = 1.03, 95% CI = 0,64-1,66). The analysis statistics pointed with respect to significant a positive association of variants CYP1B1*2 (OR=1,55, IC 95%=0,98-2,47) and CYP3A4*1B (OR=1,51, IC 95%=0,97-2,37) for the prostate cancer, being the results in the limit of the significance. The combined analysis of genotypes showed significant positive association for the combinations of variants CYP1A1*2B, CYP1B1*2 and CYP3A4*1B (OR=2,55, IC 95%=1,08-5,99). The analysis of histopathological parameters did not detect statistically significant differences, except in relation variant CYP1A1*2B for perineural invasion (p=0,0382), variant *GSTT1**0 separately (p=0,0295) and in combination with variant *GSTM1**0 (p=0,0251) and the combination of these two variants of phase II with variant CYP3A4*1B (p=0,0291), had shown statistical significant for histologic degree. Our results had indicated that some separately analyzed polymorphic variants or in combination can influence in the development and the progression of the prostate cancer.

Keywords: CYP1A1. CYP1B1. CYP3A4. *GSTM1* and *GSTT1*. Polymorphism genetic. Prostate cancer.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema de estadiamento TNM para tumores confinados à próstata, proposto pela AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer, 2002)	23
---	----

ARTIGO A

Tabela 1 – Características demográficas e comportamentais de pacientes com carcinoma de próstata (n=170)	55
Tabela 2 – Parâmetros histopatológicos dos portadores de câncer de próstata presentes no estudo	56

ARTIGO B

Tabela 1 Características demográficas e comportamentais de pacientes com carcinoma de próstata (n=170)	61
Tabela 2 Sequências iniciadoras e condições de reação para a análise das variantes CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, <i>GSTM1</i> *0 e <i>GSTT1</i> *0	62
Tabela 3 Distribuição dos genótipos raros, heterozigotos, e prevalentes, ORs e intervalos de confiança 95% em pacientes com câncer de próstata (n=170) e indivíduos controles sem câncer de próstata (n=170)	67
Tabela 4 – Distribuição dos pacientes portadores de câncer de próstata com genótipos raros e/ou heterozigotos (GHR) e prevalentes (GP) com presença ou ausência de extensão extracapsular (EC), comprometimento de vesículas (CV), invasão perineural (IP), bilateralidade (B) e invasão de linfonodos (IL)85 Tabela 5 Distribuição dos pacientes com genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) com diferentes escores de Gleason	69
Tabela 5 – Distribuição dos pacientes com genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) com diferentes médias dos níveis do antígeno prostático específico (PSA)	70
Tabela 6 – Distribuição dos pacientes com genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) com diferentes médias dos níveis do antígeno prostático benigno (PSA)	71

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Incidências de câncer de próstata por 100.000 homens, estimadas para o ano 2008, segundo a Unidade da Federação 19
- Figura 2** – Graduação histológica no sistema Gleason. Grau pouco severo de câncer de próstata (esquerda), com estrutura glandular é relativamente organizada e diferenciada. Nos graus mais altos, estrutura glandular indiferenciada..... 21

ARTIGO A

- Figura 1** – Padrão de bandas da variante CYP1A1*2B..... 63
- Figura 2** – Padrão de bandas da variante CYP1B1*2..... 64
- Figura 3** – Padrão de bandas da variante CYP3A4*1B..... 65
- Figura 4** – Padrão de bandas das variantes *GSTM1**0 e *GSTT1**0..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS

Ah	Rreceptor do aril-hidrocarbono
Ala	alanina
CYPs	citocromos P450
CYP1A1	citocromo P450, família I, subfamília A, polipeptídeo 1
CYP1B1	citocromo P450, família I, subfamília B, polipeptídeo 1
CYP3A4	citocromo P450, família III, subfamília A, polipeptídeo 4
DMBA	7,12-dimetil-benz[a]anthracene
DNA	acido desoxirribonucléico
GSH	glutathiona
GSTM1	glutathiona S-transferase mu 1
GSTs	glutathiona-S-transferases
GSTT1	glutathiona S-transferase theta 1
HNP	hiperplasia nodular da próstata
IC	intervalo de confiança
Ile	isoleucina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
NATs	N-acetiltransferases
NIP	neoplasia intra-epitelial prostática
OR	razão de probabilidade
PAHs	hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
PCR	reação em cadeia da polimerase
PSA	antígeno prostático específico
RFLP	polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição
RNA	ácido ribonucléico
RTU	ressecção transuretral
SNP	polimorfismo de um único nucleotídeo
TCDD	2,3,7,8-tetracloro- ρ -dibenzodioxina
UTR	ultra-som transretal
Val	Valina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 CARCINOMA DE PRÓSTATA	15
1.1.1 Epidemiologia e Fatores de Risco	16
1.1.2 Diagnóstico e Estadiamento	19
1.1.3 Tratamento.....	24
1.2 SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AOS TUMORES DE PRÓSTATA	24
1.2.1 Metabolização Xenobiótica e Câncer de Próstata	25
1.2.1.1 Enzimas de fase I: família citocromo P450	27
1.2.1.1.1 Gene CYP1A1	28
1.2.1.1.2 Gene CYP1B1	29
1.2.1.1.3 Gene CYP3A4	32
1.2.1.2 Enzimas de fase II: glutathiona S-transferase	32
1.2.1.2.1 Gene <i>GSTM1</i>	33
1.2.1.2.2 Gene <i>GSTT1</i>	34
2 JUSTIFICATIVA	36
3 OBJETIVOS	37
3.1 OBJETIVOS GERAIS	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4 ARTIGO A	38
4.1 EPIDEMIOLOGIA DO CARCINOMA DE PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO PARANAENSE	38
4.2 ARTIGO B: AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, <i>GSTM1</i> *0 E <i>GSTT1</i> *0 NO CÂNCER DE PRÓSTATA.....	57
CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS	83

ANEXOS	101
ANEXO A – INFORMAÇÕES AO DOADOR.....	102
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	104
ANEXO C – QUESTIONÁRIO PESSOAL	106

1 INTRODUÇÃO

Alterações que se acumulam progressivamente no material genético de uma célula normal podem levar ao aparecimento de um câncer. Uma ou mais alterações podem surgir como consequência da exposição a carcinógenos químicos, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e aminas heterocíclicas; físicos, como a radiação ionizante e os raios-X e biológicos, como os vírus (ALBERTS et al., 2006). Essas modificações afetam diferentes passos nas vias que regulam os processos de proliferação, diferenciação e morte celular. As células passam a proliferar de forma anômala, formando uma massa de células desordenadas, que constitui um tumor (FERREIRA; ROCHA, 2004).

Devido à complexidade e à existência de vias alternativas no controle da proliferação celular, é necessária a ocorrência de alterações adicionais e sucessivas em diferentes genes para que haja a formação de um tumor maligno. Cada nova alteração é acompanhada de uma nova onda de expansão clonal e, ao final desse processo, surgem uma ou duas populações celulares com grande potencial de crescimento e invasão (FUTREAL et al., 2001).

Entre as alterações genéticas podemos citar as translocações cromossômicas, amplificações gênicas e mutações de ponto (KNUDSON, 1985) que podem levar à ativação de proto-oncogenes e, assim, a expressão dos oncogenes comandará a proliferação anormal das células e a formação do tumor (ALBERTS et al., 2006). Alterações genéticas como mutações pontuais, perdas alélicas ou metilação do DNA podem incidir sobre os genes supressores de tumor inativando-os e liberando a célula da inibição regulada pelos mesmos em determinadas fases do ciclo celular (pontos de checagem), levando à proliferação desordenada, característica da célula cancerosa (WEINBERG, 1992).

Genes polimórficos que codificam enzimas envolvidas no metabolismo de carcinógenos, como os da superfamília do Citocromo P450 (CYPs) e das Glutathione S-transferases (GSTs) influenciam diretamente na resposta individual aos agentes carcinogênicos químicos, já que alelos diferentes condicionam fenótipos com maior ou menor capacidade de metabolização, tanto na biossíntese (genes da fase I), como na degradação (genes da fase II) de carcinógenos. Por causar possíveis efeitos na função da proteína ou em sua expressão, pode-se admitir que a presença de variantes polimórficas nos genes envolvidos no metabolismo de carcinógenos, no reparo do DNA e no controle do ciclo celular poderia

tornar os indivíduos mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores (PERERA, 1997). Portanto, o desenvolvimento de câncer dependerá de uma série de fatores, entre eles, o tempo e a intensidade da exposição a carcinógenos e a suscetibilidade genética do indivíduo.

1.1 CARCINOMA DE PRÓSTATA

A próstata é um órgão sólido, pesando cerca de 20 gramas, constituído de elementos fibrosos, glandulares, musculares e vasculares, que envolve a uretra masculina, entre a bexiga e o diafragma vesical. A glândula prostática se une à sínfise púbica pelo ligamento puboprostático e é separada do reto, posteriormente, pelo septo retrovesical (ou fâscia de Denovillier), o qual se liga acima pelo peritônio e abaixo pelo diafragma urogenital. Na extensão póstero-superior da próstata localizam-se as vesículas seminais e os ductos deferentes, enquanto que na face anterior, encontra-se o complexo venoso dorsal (SALVAJOLI et al., 1999).

Este órgão pode ser dividido em grupos glandulares internos e externos. Fazem parte do grupo glandular interno as glândulas mucosas e as submucosas e, do externo, as glândulas externas ou prostáticas propriamente ditas. Há ainda uma outra designação topográfica em três zonas: a zona de transição corresponde à região que envolve a uretra proximal; a zona central, à porção que acompanha os ductos ejaculadores; e a zona periférica, à parte que envolve a uretra distal e que corresponde à região apical da próstata (BRASILEIRO, 2006).

Na glândula prostática há dois processos patológicos distintos: hiperplasia nodular da próstata (HNP), que consiste no crescimento nodular na zona de transição resultante da proliferação não-neoplásica do estroma e das glândulas mucosas e submucosas (BRASILEIRO, 2006), acometendo quase 90% dos homens após os 40 anos (UNIFESP, 2008); e o câncer de próstata, neoplasia maligna constituída pela proliferação de células epiteliais dos ácinos e/ou ductos prostáticos (BRASILEIRO, 2006), que ocorre associado ou não ao crescimento benigno (CONFORTI-FROES et al., 2002).

O carcinoma prostático é o mais freqüente tumor sólido diagnosticado no sexo masculino (20% dos casos) (GOMES, 1997), sendo a segunda causa principal de morte por câncer em homens (PLASKON et al., 2003). É uma doença de homens idosos, com pico de incidência e mortalidade por volta da sétima década de vida, mas com características de

um tumor heterogêneo de crescimento lento, porém contínuo, que leva 20 anos ou mais para se desenvolver de uma lesão focal até uma neoplasia maligna invasiva (POLLOCK et al., 2006).

Na maioria dos casos (70%), este tumor origina-se na zona periférica da próstata, geralmente é multifocal, o que facilita a sua palpação durante o exame do toque retal. Tipicamente, as lesões iniciais consistem em focos arenosos, firmes e pouco demarcados. Os casos localmente invasivos podem infiltrar as vesículas seminais e a bexiga. Ocorrem metástases linfáticas, inicialmente nos linfonodos obturadores, seguidas de disseminação para os linfonodos perivesicais, hipogástricos, ilíacos, pré-sacrais e para-aórticos, e metástases ósseas atingindo especialmente ossos da pelve e das vértebras (SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA, 2003). Esta localização preferencial para os ossos da pelve e das vértebras pode ser explicada pela disseminação linfática, a hematogênica, que ocorre por meio do plexo venoso vertebral, e pelas vias usuais linfáticas e venosas (SERAFINI, 2001).

Quanto ao comportamento biológico, este tumor é classificado nos seguintes tipos: (i) carcinoma clínico, que apresenta manifestações locais e é suspeito por achados clínicos; (ii) carcinoma latente (dormente ou indolente), que é apenas histológico, muito pequeno e pode ser encontrado em autópsias, em ressecção transuretral (RTU) ou prostatectomia aberta para tratamento de HNP e em biópsias de agulha; (iii) carcinoma oculto, que corresponde ao carcinoma clínico, cujas manifestações decorrem das metástases e não do crescimento local da neoplasia (BRASILEIRO, 2006).

Na carcinogênese prostática ocorre uma sucessão de fenômenos: surgem as lesões pré-cancerosas (NIP= neoplasia intra-epitelial prostática); aparecimento do carcinoma histológico em cerca de 25%-30% dos homens acima de 40 anos de idade e progressão para o carcinoma clínico. Ao longo dessa seqüência atuam múltiplos fatores (carcinógenos ambientais, idade, etnia, hormônios e constituição genética) (BRASILEIRO, 2006).

1.1.1 Epidemiologia e Fatores de Risco

O perfil de morbimortalidade por câncer de próstata tem se alterado nas últimas décadas, configurando-se atualmente como um dos mais sérios problemas de saúde pública mundial (POLLOCK et al., 2006). A American Cancer Society (2008) estimou que

durante 2008 aproximadamente 186.320 novos casos de câncer de próstata seriam diagnosticados nos Estados Unidos. No Brasil, o valor bruto de novos casos diagnosticados estimado para 2008 foi de 49.530 para 100 mil homens (INCA, 2008).

Ainda segundo dados do INCA, a incidência de câncer de próstata sofreu um aumento progressivo, observand-se crescimento de mais de 100% em algumas regiões brasileiras. Isto se deve às novas metodologias de detecção precoce da doença, especialmente através do exame do antígeno prostático específico (PSA), aplicado sob a forma de triagem populacional e ao aumento na expectativa de vida do brasileiro (INCA, 2008).

Fatores de risco para esta doença permanecem desconhecidos. Porém, dados clínicos e epidemiológicos sugerem que o desenvolvimento do câncer de próstata é um processo multifatorial, dependente da interação de fatores genéticos e ambientais (ROBBINS et al., 2001).

Antecedentes familiares têm particular importância, pois elevam o risco em três vezes ou mais para os descendentes (CARTER et al., 1990; CRAWFORD, 2003). Existem famílias em que a incidência é muito superior aos valores da população em geral. Os indivíduos com um parente em primeiro grau com a doença têm um risco 2,2 vezes superior à população em geral. Este risco duplica se existirem dois parentes desse mesmo grau. O fator genético de suscetibilidade parece responder por 13% dos cânceres de próstata registrados (POLLOCK et al., 2006).

Quanto aos fatores ambientais, existem muitas relações possíveis, entre as quais, o contato com carcinógenos químicos como, fertilizantes, ferro, cromo, cádmio, borracha e chumbo (MULTIGNER et al., 2008). Dietas ricas em gordura animal podem aumentar as taxas de androgênios e relacionarem-se com o aumento dos tumores da próstata (CRAWFORD, 2003; GOMES et al., 2006), ao contrário da gordura vegetal e dos frutos do mar, que apresentam potencial de proteção em relação à incidência deste câncer (COHEN et al., 2000; CRAWFORD, 2003; CHAN et al., 2005).

De acordo com Isaacs (1983), a idade é um importante fator de risco para o desenvolvimento de câncer de próstata, pois a partir dos cinquenta anos aumenta a incidência, tanto do adenocarcinoma na forma histológica (latente), quanto do carcinoma clínico. Entretanto, o achado histológico não indica necessariamente a manifestação clínica da neoplasia, uma vez que em cada dez cânceres histologicamente diagnosticados, um não progredirá (ISAACS, 1983). A probabilidade de desenvolver câncer de próstata aumenta 0,005% entre indivíduos com idade menor que 39 anos a 2,2% (1 em 45) para idades entre 40

a 59 anos e 13,7% (1 em 7) para idades entre 60 a 79 anos (CRAWFORD, 2003; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2008).

Pollock et al. (2006) afirmam que a incidência de câncer de próstata clínico e sua mortalidade são baixas na Ásia e altas na Europa e na América do Norte, tendo a América Latina e o sul da Europa taxas intermediárias. Estudos epidemiológicos mostraram que a doença é aproximadamente 60% mais alta na população negra americana do que em brancos. A incidência do câncer clínico é cerca de oito vezes menor na população chinesa e japonesa do que em caucasianos norte-americanos (WHITTEMORE et al., 1999). Contudo não se observa esta diferença em relação à frequência do carcinoma de próstata histopatológico (AKAZAKI; STEMMERNONN, 1973). Cantrell et al. (1981) observaram que a frequência do câncer histológico sofre influência da idade, mas não da etnia, sendo possível que na sua gênese (iniciação) haja influência de carcinógenos encontrados universalmente e que esses teriam seu efeito potencializado com o aumento da idade. Na fase de promoção da neoplasia o desenvolvimento do carcinoma clínico seria influenciado pelo fator étnico e por eventuais novos carcinógenos aos quais o paciente estaria exposto. Sommerkamp et al. (1990) observaram um aumento da frequência do câncer de próstata clínico em japoneses que migraram e residiam nos Estados Unidos, se igualando com a incidência dos norte-americanos. Tais achados são indicativos de que fatores ambientais ou dietéticos são também responsáveis pelo fenômeno (SOMMERKAMP et al., 1990).

No Brasil os dados de incidências de câncer de próstata não estão definidos. Segundo o INCA, observam-se as mais altas taxas de incidência no Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul, que são atribuídas a fatores de risco étnicos e ambientais dessas populações (Figura1).



Figura 1 – Incidências de câncer de próstata por 100.000 homens, estimadas para o ano 2008, segundo a Unidade da Federação.

Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2008)

Outro fator de risco importante é a influência hormonal. A glândula prostática cresce e funciona dentro de um ambiente multi hormonal, respondendo a uma variedade de fatores reguladores de seu crescimento, como hormônios esteróides, andrógenos, estrógenos e glucocorticóides (POLLOCK et al., 2006). Homens que passaram por castração antes da puberdade e com anormalidades na metabolização de andrógenos não desenvolvem câncer de próstata (HAAS; SAKR, 1997). Portanto, a exposição contínua a andrógenos, metabólitos de andrógenos, e outros fatores fisiológicos, podem também desempenhar algum papel na predisposição dos homens ao desenvolvimento do câncer de próstata (COUGHLIN; HALL, 2002).

1.1.2 Diagnóstico e Estadiamento

Atualmente, para diagnosticar o câncer de próstata são realizados três exames: o exame clínico (toque retal), que busca zonas de enrijecimento na próstata ou a assimetria da glândula; o exame dos níveis séricos do PSA, que determina a concentração de um marcador nãoespecífico para o câncer de próstata, mas que proporciona uma medição do

aumento do volume da próstata ou da progressão da doença e o ultra-som transretal (UTR), que é capaz de demonstrar lesões que produzem pouco eco no sonograma da próstata (POLLOCK et al., 2006; INCA, 2008). Nenhum dos três testes tem alta sensibilidade para a detecção do câncer em estágio precoce. A utilização dos exames de toque retal e de PSA oferece uma combinação confiável que define, com bastante eficácia, o grau de risco e a necessidade de realizar uma biópsia para confirmar o diagnóstico (KAISARY et al., 1999).

A grande maioria dos cânceres de próstata é adenocarcinoma de natureza heterogênea. O grau de diferenciação, o estágio da doença no momento do diagnóstico, as margens cirúrgicas e a dosagem do nível do PSA são reconhecidos como fatores prognósticos de importância comprovada, que predizem a evolução da doença, tanto a localizada quanto a metastática. Sob o ponto de vista histológico, as neoplasias prostáticas são classificadas em função do grau de diferenciação celular e padrão de crescimento em relação ao estroma (SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA, 2003; KOKENY et al., 1998). Existem vários sistemas de graduação histológica que apresentam dificuldades de aceite. Seja por problemas de reprodutibilidade inter e intra-observadas ou pelo fato de os sistemas de graduação não se aplicarem aos casos individuais (MOSTOFI et al., 1992). O sistema Gleason é o mais utilizado e aceito atualmente devido à alta correlação com prognóstico e relativa simplicidade (GLEASON, 1990). A escala de graduação do câncer da próstata varia de 1 a 5, com o grau 1 sendo a forma menos agressiva. As características dos diferentes graus de Gleason são: Grau 1 – As células são geralmente uniformes e pequenas e formam glândulas regulares, com pouca variação de tamanho e forma, com bordos bem definidos, densamente agrupadas, distribuídas homoganeamente e com muito pouco estroma entre si; Grau 2 – As células variam mais em tamanho e forma e as glândulas, ainda uniformes, mostram-se frouxamente agrupadas e com bordos irregulares; Grau 3 – As células variam ainda mais em tamanho e forma, constituindo glândulas muito pequenas, uniformes, anguladas ou alongadas, individualizadas e anarquicamente espalhadas pelo estroma. Podem formar também massas fusiformes ou papilíferas, com bordas lisas; Grau 4 - Muitas das células estão fusionadas em grandes massas amorfas ou formando glândulas irregulares, que são distribuídas anarquicamente, exibindo infiltração irregular e invadindo os tecidos adjacentes; e Grau 5 – Tumor anaplásico, apresentando a maioria das células agrupadas em grandes massas que invadem os órgãos e tecidos vizinhos. As massas de células podem exibir necrose central, com padrão de comedocarcinoma (Figura 2). Muitas vezes, a diferenciação glandular pode não existir: padrão de crescimento infiltrativo tipo cordonal ou de células soltas (BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE, 2008).

Para se obter o escore total da classificação de Gleason, que varia de 2 a 10, é realizada a somatória dos dois graus histopatológicos, considerando o padrão predominante e o padrão secundário da neoplasia (Figura 2). Os tumores e graus entre 2 e 4 incluem adenocarcinomas bem diferenciado, os graus entre 5 e 6 correspondem em adenocarcinomas moderadamente diferenciados e os graus entre 7 e 10 abrangem lesões pouco diferenciadas (Tabela 1). Quanto mais baixo o escore de Gleason, melhor será o prognóstico do paciente (INCA, 2008). Figura 2-Graduação histológica no sistema de Gleason. Grau pouco severo de câncer de próstata (à esquerda), com estrutura glandular relativamente organizada e diferenciada. Nos graus mais altos, estrutura glandular indiferenciada. FONTE: Pittsburgh Supercomputing Center (PSC), 2008.



Figura 2 – Graduação histológica no sistema de Gleason. Grau pouco severo de câncer de próstata (à esquerda), com estrutura glandular relativamente organizada e diferenciada. Nos graus mais altos, estrutura glandular indiferenciada.

Fonte: Pittsburgh Supercomputing Center (PSC), 2008.

A extensão inicial da neoplasia também se relaciona com o prognóstico e, neste sentido, o estadiamento é realizado pelo padrão TNM (T, indicando a expansão do tumor, N, o comprometimento dos linfonodos e M, o aparecimento de metástases) da American Urologic Association (AUA) (Tabela 1). A classificação T abrange uma ampla variedade de tumores, desde a categoria T1a, um câncer pequeno, bem diferenciado, que

normalmente não progride, até os tumores T1b, com volumes maiores e diferenciação menor, cuja progressão média é 4,7 anos. A categoria T1c classifica todos os tumores não palpáveis no exame de toque retal e não visíveis no ultra-som transretal, mas que costumam ser detectados por biópsia confirmatória depois do estabelecimento de um nível anormal de PSA sérico (SOBIN; WITTKIND, 2002).

O estadiamento pode ser clínico e patológico, sendo o estadiamento clínico estabelecido a partir dos dados do exame físico, dos exames radiológicos e laboratoriais e estadiamento patológico baseia-se nos achados cirúrgicos e no exame anátomopatológico da peça operatória. Este estadiamento é estabelecido após tratamento cirúrgico e determina a extensão da doença com maior precisão. O estadiamento patológico pode ou não coincidir com o estadiamento clínico e não é aplicável a todos os tumores (INCA, 2008).

Tabela 1 – Sistema de estadiamento TNM para tumores confinados à próstata, proposto pela AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer, 2002).

Tumor Primário (T)	
TX	- Tumor primário não pode ser avaliado
T0	- Não há evidência de tumor primário
T1	- Tumor é um achado histológico incidental, não é palpável ao toque retal ou visualizado por técnicas de imagenologia
T1a	- tumor em 5% ou menos do tecido ressecado
T1b	- tumor em mais de 5% do tecido ressecado
T1c	- tumor identificado em biópsia por agulha (PSA elevado, porém tumor não palpável ao toque e não visualizado em ultra-sonografia)
T2	- Tumor limitado à próstata
T2a	- tumor compromete até metade de 1 lobo, ou menos
T2b	- tumor compromete mais da metade de 1 lobo, porém não ambos os lobos
T2c	- tumor compromete ambos os lobos
T3	- Tumor se estende além da cápsula prostática
T3a	- extensão extra-capsular (unilateral ou bilateral)
T3b	- tumor invade vesícula(s) seminal(is)
T4	- Tumor está fixo ou invade estruturas adjacentes outras que não a vesícula seminal: colo vesical, esfíncter externo, reto, músculos elevadores ou parede pélvica
Linfonodos Regionais (N)	
NX	- Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	- Ausência de metástases em linfonodos regionais
N1	- Metástase (s) em linfonodo(s) regional (ais)
N1 (mi)	- micrometástases de até 0,2cm
Metástases à Distância (M)	
MX	- Presença de metástases à distância não pode ser avaliada
M0	- Ausência de metástases à distância
M1	- Metástases à distância
M1a	- linfonodo(s) não-regional(ais)
M1b	- osso(s)
M1c	- outra (s) localização (ões)

Outro parâmetro de prognóstico é representado pelo volume da lesão primária. Quando tal lesão tem menos que $3 \text{ ou } 4 \text{ cm}^3$, a incidência de metástases é nula e nos pacientes com lesões superiores a 12 cm^3 frequentemente existem metástases (KLEIN, 1998).

Para o diagnóstico de câncer de próstata ter validade clínica é necessário que o estadiamento e a avaliação dos fatores prognósticos sejam realizados de forma adequada. Hoje não existe um índice prognóstico infalível, mas as avaliações do grau, do estágio, do volume do tumor e do nível sérico de PSA oferecem precisão suficiente para permitir a tomada de decisões quanto ao tratamento (POLLOCK et al., 2006).

1.1.3 Tratamento

O tratamento do câncer de próstata é influenciado primeiramente pelo estágio da doença (ROBBINS et al., 2001). Quando o tumor é detectado precocemente, é mais provável que este tenha uma localização regional e, conseqüentemente, um maior potencial de cura (RIPPLE; WILDING, 1999). A doença localizada perceptível, até os tumores confinados de graus elevados são tratáveis, seja pela cirurgia, pela radioterapia, pela braquiterapia ou por outros tratamentos baseados no congelamento (criocirurgia) ou no aquecimento (ultra-som focalizado de alta intensidade) (POLLOCK et al., 2006). A cirurgia implica em prostatectomia total, normalmente com a ressecção de todo o tecido prostático, enquanto a radiação e os outros procedimentos visam destruir o tumor sem eliminar todo o tecido prostático (KAISARY et al., 1999).

Na doença avançada, ainda se tenta o tratamento com a radioterapia, depois de um ciclo de tratamento hormonal neoadjuvante, mas a doença metastática indica doença inquestionavelmente incurável. O tratamento hormonal, com antiandrogênicos (Acetato de ciproterona a 300mg/d, Flutamida a 750mg/d, Nilutamida a 300mg/d e Bicalutamida a 150mg/d), estrógenos, progestágenos, preparados de ação retardada do antiandrogênio LHRH, pode retardar a progressão da doença, pois reduz os níveis da testosterona circulante no plasma ou bloqueia a ação do dihidrotestosterona (DHT) dentro das células neoplásicas de próstata. Entretanto, os cânceres em estágio terminal são resistentes aos hormônios, o que resulta em doença debilitante e morte em 1 ou 2 anos (POLLOCK et al., 2006). A escolha do tratamento adequado deve ser individualizada e definida, após a discussão dos riscos e benefícios do mesmo (INCA, 2008).

1.2 SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER

Há cerca de 15 anos a suscetibilidade genética ao câncer era atribuída principalmente ao nível de exposição aos carcinógenos (WEINBERG, 1992). Atualmente acredita-se que o longo processo que conduz ao câncer, a partir da exposição, está sujeito a variações individuais que, por sua vez, estão sob o controle genético (ROSSIT et al., 1999). O polimorfismo genético é o traço mendeliano existente em uma população em, no mínimo, dois fenótipos (ou seja, variantes alélicas de um mesmo locus gênico), nenhum dos quais

ocorrendo em frequência menor que 1% (COUGHLIN; HALL, 2002). O tipo mais comum de polimorfismo é a substituição de um único nucleotídeo (em inglês, single nucleotide polymorphism ou SNP). Essas variantes alélicas podem atuar como marcadores genéticos, já que afetam a expressão ou a atividade catalítica de inúmeras enzimas em diferentes mecanismos moleculares e são transmitidas para a próxima geração (WOGAN, 1992).

Marcadores genéticos podem ser definidos como método, estrutura ou processo que se encontra na via causal, ou intimamente ligado a esta, no momento da exposição ao carcinógeno (BARTSCH, 2000). De acordo com o Conselho Norte Americano de Pesquisa, apud Louro et al. (2002), são encontradas três categorias de marcadores disponíveis para os estudos em sistemas biológicos: marcadores de exposição, que fornecem informações sobre a quantidade de xenobióticos a que os indivíduos estão expostos (detectados na urina, plasma, saliva, etc); marcadores de efeito, que indicam a presença da doença ou de sinais pré-clínicos da mesma, representando momentos isolados do processo, que podem ser qualitativa ou quantitativamente avaliados (aberrações cromossômicas, status hormonais alterados e mutações em proto-oncogenes e genes supressores de tumor); e marcadores de suscetibilidade, que indicam indivíduos ou populações com diferenças biológicas capazes de alterar a resposta do organismo a agentes ambientais (absorção diferencial de micronutrientes e os polimorfismos nos genes de reparo e do biometabolismo).

Assim, um tipo relevante de marcador de suscetibilidade está relacionado à presença de polimorfismos nos genes que codificam enzimas cujas modificações podem aumentar ou diminuir a capacidade de substâncias mutagênicas/carcinogênicas, como os xenobióticos (compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico), de interagirem com DNA, RNA ou proteínas (GUENGERICH, 2000).

Portanto, a presença de polimorfismos genéticos nos genes codificadores de enzimas metabolizadoras de xenobióticos confere uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de tumores (DONG, 2006).

1.2.1 Metabolização de Xenobióticos

Vários carcinógenos do ambiente podem ser ativados e/ou detoxificados por enzimas metabolizadoras de drogas. O sistema de metabolização xenobiótica humano

compreende duas classes de enzimas, as de metabolismo oxidativo mediado ou de Fase I e as enzimas conjugadas ou de Fase II (FERREIRA; ROCHA, 2004).

As enzimas da Fase I, constituídas pelos citocromos P450 (CYPs), catalisam alterações primárias na molécula, por meio de reações de hidrólise, redução e oxidação, e introduzem ou expõem um grupo funcional quimicamente reativo (-OH, -NH₂, -SH ou -COOH) na molécula do xenobiótico. Os principais CYPs humanos que metabolizam agentes carcinogênicos são CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2E1, CYP3A4 e CYP3A5 (PARKINSON, 2001; FERREIRA; ROCHA, 2004).

As enzimas da fase II são representadas pelas Glutathione S-transferases (GSTs), UDP-glucuroniltransferases e N-acetiltransferases (NATs). Essas enzimas são responsáveis por reações de conjugação, onde são adicionados ao substrato grupamentos altamente polares, como radicais glucoronídeos, acetil, metil, sulfatos ou aminoácidos (OBLIGACION et al., 2005), que tem como objetivo final aumentar a solubilidade em água dos compostos, facilitando sua excreção do organismo. As GSTs também modulam a indução de outras enzimas e proteínas importantes para a manutenção das funções celulares, como o reparo a danos no DNA.

Portanto, deficiência destas enzimas pode ser um fator de risco para o câncer, por proporcionar sensibilidade aumentada a vários carcinógenos (FERREIRA; ROCHA, 2004).

Normalmente a seqüência típica é a Fase II sucedendo a Fase I, porém, caso o xenobiótico possua grupos funcionais adequados, a conjugação pode ocorrer sem ser precedida pela Fase I e, em alguns casos excepcionais, produtos conjugados de fase II podem ser substratos para reações catalisadas pelas enzimas de Fase I (PARKINSON, 2001).

Os estudos do tipo caso-controle das freqüências dos genes do biometabolismo envolvem o uso de controles pareados em relação ao sexo, etnia e alguns hábitos relacionados com o estilo de vida do paciente. Várias pesquisas descreveram as freqüências de genes do biometabolismo em populações-controles de distintas regiões brasileiras (ROSSIT et al., 1999; HATAGIMA et al., 2000), incluindo o Paraná (D'ARCE; CÓLUS, 2000; LOSIGUEMBAROVSKI et al., 2002).

Esses dados são muito importantes, pois segundo Conforti-Froes et al. (1998), o melhor entendimento da associação entre câncer, suscetibilidade herdada e exposições ambientais em determinada região geográfica, depende da distribuição na

população em geral de variantes alélicas polimórficas envolvidas em diferentes processos, como metabolização de xenobióticos e reparo a danos do DNA.

1.2.1.1 Enzimas de fase I: família citocromo P450

As enzimas que compõem o sistema Citocromo P450 (CYP) são as mais importantes dentre as envolvidas nas reações da Fase I da biotransformação de xenobióticos lipofílicos, ácidos graxos, vitaminas, prostaglandinas, amins, feromônios, esteróides e metabólitos vegetais (WOLF, 1986). Essas enzimas, juntamente com a NADPH citocromo redutase e citocromo b5 redutase, constituem o sistema citocromo P450. Neste sistema, o citocromo P450 é a enzima terminal, com afinidade aos diversos substratos, enquanto a NADPH citocromo P450 redutase é a enzima intermediária, responsável pela transferência de elétrons provenientes da fonte geradora, o NADPH, para o citocromo P450. O citocromo b5 acompanha o citocromo P450 e funciona como uma via alternativa na transferência de elétrons da fonte para o citocromo P450 (OGA, 2003).

O complexo citocromo P450 está altamente distribuído em animais, plantas e protistas (BLACK; COON, 1986) e existe na natureza desde antes da separação dos organismos em eucariontes e procariontes (LADERO et al., 1998). Nos mamíferos, está presente em todos os tecidos, embora em maior abundância no tecido hepático. Ao nível celular é encontrado predominantemente no retículo endoplasmático e nas mitocôndrias e calcula-se que estejam funcionalmente presentes mais de 200 dessas proteínas (NEBERT; DALTON, 2006). Os substratos para o CYP450 incluem vitaminas, esteróides, ácidos graxos, prostaglandinas, amins e xenobióticos, tais como drogas (antibióticos), carcinógenos ambientais, antioxidantes, solventes, anestésicos, corantes, pesticidas, produtos derivados de petróleo, alcoóis, entre outros (OBLIGACION et al., 2005).

As isoenzimas P450 são divididas em famílias, com base em sua relação evolutiva determinada pelo grau de homologia de genes individuais e, conseqüentemente, pela composição dos aminoácidos nas proteínas. A maioria dos genes da superfamília P450 (CYPs) são polimórficos, incluindo um grande número de pseudogenes. A distribuição interindividual das formas de P450 é surpreendentemente diferente, desse modo, vários polimorfismos podem ser a provável conseqüência da adaptação alimentar de diferentes populações no mundo (INGELMANSUNDBERG, 2001).

Os polimorfismos nos genes CYP podem originar enzimas sem atividade, ou com atividade reduzida, alterada ou aumentada. Os alelos que originam enzimas sem atividade frequentemente apresentam deleção completa do gene, mas também existem alelos defeituosos, com mutações que provocam alterações de “splicing”, códons de parada, anulação de sítios “start” transcritoriais ou mudanças deletérias em aminoácidos. Em adição, podem ocorrer mutações em sítios de reconhecimento de substratos, originando a síntese de enzimas com especificidades alteradas. Dessa forma, os polimorfismos nos genes CYP influenciam a capacidade dos indivíduos de converter diferentes compostos pró-carcinogênicos em carcinogênicos e, assim, ser o principal fator para a suscetibilidade do indivíduo ao desenvolvimento de câncer induzido quimicamente. Os CYPs mais importantes na ativação de pró-carcinógenos são CYP1A1, 1A2, 1B1, 2D6, 2E1 e 3A4 (INGELMAN-SUNDBERG, 2001).

1.2.1.1.1 Gene CYP1A1

No homem, o gene CYP1A1 está mapeado em 15q22-q24 (HILDEBRAND et al., 1985) e consiste em 7 éxons e 6 íntrons (EVANS, 1993). Foram descritos 15 SNPs que caracterizam as variantes alélicas: *1A, *1B, *1C, *2A, *2B, *2C, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, sendo os polimorfismos mais estudados: MspI (*2A) e o que leva à troca de aminoácidos Ile-Val (*2B) (KAWAJIRI, 1999).

O produto do gene CYP1A1 é o hidrocarboneto de aril hidrolase, que é responsável pela oxidação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em produtos fenólicos e epóxidos (ROSSIT; FROES, 2002). O gene é induzido por substâncias tais como a dioxina e os PAHs. A presença de polimorfismos no domínio catalítico ou nos reguladores do CYP1A1, nos genes do receptor do aril hidrocarbono (AhR), ou na proteína que transporta o receptor tem se mostrado como importantes biomarcadores por estarem envolvidos na indução deste gene (PAVANELLO; CLONFERO, 2000).

O polimorfismo abordado neste estudo trata-se de uma mutação de ponto (A₄₈₈₉ → G) no exon 7 de CYP1A1 (HAYASHI et al., 1991). Tal mutação leva à substituição do aminoácido isoleucina (Ile) por valina (Val) no resíduo 462, resultando em dois genótipos homozigotos (A/A e G/G) e um heterozigoto (A/G). A presença do genótipo

raro (G/G) confere um aumento de pelo menos três vezes na atividade catalítica da enzima (COUGHLIN; HALL, 2002; PAVANELLO; CLONFERO, 2000).

A principal função da enzima CYP1A1 é a oxidação dos PAHs como primeiro passo que leva à sua eliminação. Existem evidências convincentes de que uma atividade aumentada de CYP1A1 pode levar à toxicidade, o que pode ser exemplificado por meio do metabolismo do benzo(a)pireno (BROOKS et al., 1999). Este composto, encontrado no cigarro e na carne de churrasco, passa por duas oxigenações sucessivas pela enzima, levando à formação do diol-epóxido-benzo(a)pireno, um composto altamente mutagênico (BAROUKI; MOREL, 2001).

Outro mecanismo pelo qual a enzima CYP1A1 pode provocar toxicidade é a produção de espécies reativas de oxigênio. Experimentos com cultura de células e tecidos têm mostrado que a indução da CYP1A1 pelo benzo(a)pireno ou por 2,3,7,8-tetracloro-p-dibenzodioxina (TCDD), bem como a transfecção de um vetor que expressa o CYP1A1, leva ao estresse oxidativo em vários tecidos e dentro das células (SHERTZER et al., 1998). Assim, uma alta atividade intracelular da CYP1A1 pode ser prejudicial por gerar um estresse oxidativo, o que leva à subsequente oxidação de macromoléculas biológicas (BAROUKI; MOREL, 2001).

Vários estudos indicam associação positiva entre a variante CYP1A1*2B do gene CYP1A1 e o aumento do risco para os cânceres de laringe (GAJECKA et al., 2005), cavidade oral (SUGIMURA et al., 2006), renal (SMITS et al., 2008), pulmão (KAWAJIRI et al., 1999; LEE et al., 2008), esôfago (WU et al., 2002) e leucemia (VOSO et al., 2005). Outros estudos apontam uma associação significativa desta mesma variante e o câncer de próstata, mostrando que indivíduos que carregavam o genótipo raro para esta variante apresentavam um risco maior de desenvolver esta neoplasia (MURATA et al., 2001; GAO et al., 2003; AKTAS et al., 2004; YANG et al., 2006). Porém, alguns estudos não encontraram uma associação significativa em relação à presença de variantes alélicas neste gene e o risco de câncer de próstata (WILLIAMS et al., 2000).

1.2.1.1.2 Gene CYP1B1

O gene CYP1B1 está mapeado em 2p21-22 e consiste em três exons e dois introns (BEJJANI et al., 1998). Este gene é induzido por ligantes do receptor aril

hidrocarbono (AhR), como o 7,12-dimetil-benz[a]anthracene (DMBA) e dibenzo[a]pireno, e hidrocarbonetos polihalogenados (SHIMADA; FUJII-KURIYAMA, 2004) e é expresso em tecidos extra hepáticos, como mama, pulmão, pâncreas, ovário, rim, pele, testículo, cérebro, bexiga, uretra e próstata (SHIMADA et al., 2003; SHIMADA; FUJII-KURIYAMA, 2004; TOKIZANE et al., 2005; ROOS et al., 2006).

A enzima CYP1B1 participa na bioativação de xenobióticos e de esteróides, como estrona, testosterona, e progesterona, utilizando o 17 β -estradiol endógeno como substrato para a hidroxilação (TANAKA et al., 2002). Foram descritos seis polimorfismos neste gene nas seguintes localizações: intron 1 (C→T); códon 48 (C→G); códon 119 (G→T); códon 432 (C→G); códon 449 (C→T) e códon 453 (A→G), próximos de regiões conservadas (STOILOV et al., 1998; HANNA et al., 2000).

A presença das variantes polimórficas CYP1B1*2 e CYP1B1*3 nos códons 119 (éxon 2) e códon 432 (éxon 3) têm efeitos significativos na função catalítica do gene. Estes genótipos alterados levam à formação de enzimas variantes com hiperatividade em relação à proteína selvagem, o que pode influenciar na suscetibilidade ao câncer, incluindo o de próstata, por aumentar a quantidade de compostos eletrofilicos nas células (HANNA et al., 2000).

Sasaki et al. (2004) observaram um aumento significativo na frequência do genótipo 119 T/T e G/T em células de pacientes portadores de carcinoma renal quando comparados com indivíduos saudáveis. Outro estudo aponta uma significativa diferença na distribuição das variantes alélicas CYP1B1*2 e CYP1B1*3 do gene CYP1B1 em pacientes com câncer endometrial e controles saudáveis (SASAKI et al., 2003). Alguns estudos têm revelado uma relação significativa entre a presença das variantes CYP1B1*2 e a incidência de câncer de mama e pulmão (HANNA et al., 2000; WATANABE et al., 2000). Um risco aumentado para o câncer de próstata também foi demonstrado em indivíduos que apresentavam genótipos raros nos códons 432 e 119 (SOBTI et al., 2006; BEUTEN et al., 2008). Tanaka et al. (2002) estudando uma população japonesa, verificaram que o genótipo T/T no códon 119 diferiu significativamente entre pacientes com câncer de próstata (14,5%) e controles (5,5%). Adicionalmente, a atividade do gene CYP1B1 induz a formação de aductos de DNA (WILLIAMS et al., 2000; TANAKA et al., 2002), de modo que o aumento da atividade hidroxilativa pode ser um dos mecanismos da carcinogênese prostática, sugerindo que a presença deste polimorfismo pode ser um fator de risco para esta neoplasia (TANAKA et al., 2002).

1.2.1.1.3 Gene CYP3A4

O gene CYP3A4 humano consiste em 13 éxons e localiza-se em 7q21.1 (GOODWIN et al., 1999). Este gene está presente predominantemente no tecido hepático e sua expressão é controlada pela transcrição de fatores como receptor de pregnolona, receptor de xenobióticos e glicocorticóides (OGG et al., 1999).

A enzima CYP3A4 metaboliza mais de 50% das drogas usadas clinicamente, entre elas, triazolam, midazolam, rifampicina, e ciclosporina (DALY et al., 1993), além de participar da oxidação de alguns esteróides, como a testosterona, lipídios e carcinógenos, como os pesticidas organofosforados (NELSON, 1993). Já foram identificados mais de 39 SNPs neste gene (GAO et al., 2008). Homens com variantes alélicas polimórficas podem ter redução da atividade do gene CYP3A4, com conseqüente redução na oxidação da testosterona, o que pode diminuir a conversão da mesma no seu mediador intracelular, a DHT (diidrotestosterona), envolvido na regulação do crescimento e função das células prostáticas (BANGSI et al., 2006).

Um dos polimorfismos mais estudados no gene CYP3A4 é a presença da variante alélica CYP3A4*1B, uma transição adenina-guanina (A→G) na região promotora 5'(5'PR) (posição -290), localizada na seqüência conhecida como elemento específico da nifedipina. A presença desta variante está associada com a diminuição da expressão ou da atividade da enzima CYP3A4. Uma alta variabilidade na freqüência deste polimorfismo é observada entre os diferentes grupos étnicos (COUGHLIN; HALL, 2002). A freqüência é maior em indivíduos negros (60%) do que em caucasianos (40%). Interessantemente, este alelo raro não foi encontrado em chineses e japoneses (BALL, 1999; SATA, 2000).

Estudos epidemiológicos têm identificado associações entre a variante alélica CYP3A4*1B e alguns tipos de cânceres, como leucemia e câncer de próstata. Felix et al. (1998) mostraram que a presença da variante rara apresentava um fator de proteção relacionado com o tratamento da leucemia, enquanto o alelo selvagem foi associado com o aumento da metabolização de epipodofilotoxina, quimioterápico utilizado na terapia da leucemia mielóide aguda. Alguns estudos demonstraram que esta variante genética está associada com o alto grau histológico e o avançado estágio clínico de tumores de próstata, possivelmente devido ao aumento da biodisponibilidade da testosterona (REBBECK et al., 1998). Outra investigação sugere que indivíduos que carregavam a variante alélica CYP3A4*1B tinham baixa expressão da enzima, diminuindo a atividade da testosterona 6β-hidrolase e, assim, aumentando os níveis de testosterona plasmática (WESTLIND et al., 1999). Em contraste, outros estudos não observaram resultados estatisticamente significativos em relação à presença da variante alélica CYP3A4*1B e o câncer de próstata (NAM et al., 2003; TAYEB

et al., 2003), o que ressalta a importância da identificação da mesma na validação do potencial de risco ou proteção para o câncer de próstata.

1.2.1.2 Enzimas de fase II: glutathione S-transferases

Dentre as enzimas denominadas de Fase II, envolvidas nos processos de detoxificação, as Glutathione S-transferases (GSTs) desempenham um importante papel no metabolismo celular, pois catalisam a reação de conjugação da glutathione (GSH) com compostos eletrofílicos passíveis de ligação com o DNA, tornando-os mais facilmente excretáveis, e também atuam na proteção contra produtos do estresse oxidativo (EGAN et al., 2004).

Entre os carcinógenos e drogas citotóxicas que sofrem a ação destas enzimas, estão os PAHs presentes na dieta alimentar e na fumaça do cigarro, vários pesticidas e poluentes ambientais (STRANGE et al., 2001). Quimioterápicos são também substratos para as GSTs e, neste caso, sua conjugação pode levar a uma diminuição do efeito esperado e à manifestação de resistência celular a esses efeitos (WORMHOUDT et al., 1999).

O nível de expressão das enzimas GSTs é célula e tecido-específico, dependendo do nível hormonal, exposição ambiental, tipo de composto indutor e fatores genéticos (BLACK; WOLF, 1991). Estim-se que existam pelo menos 20 GSTs na espécie humana, estando tais enzimas amplamente distribuídas entre os diferentes organismos vivos, incluindo as bactérias, fungos, moluscos, crustáceos, parasitas, insetos, plantas, peixes, pássaros e mamíferos. Sua maior concentração é observada no fígado; contudo, encontram-se em menores concentrações em outros órgãos, como pulmões, intestino delgado e próstata. Ao nível celular, são encontradas no citoplasma de microsomas e mitocôndrias de todas as células eucarióticas (HAYES; PULFORD, 1995).

A classificação destas enzimas é baseada na especificidade de substrato, sequência de aminoácidos e comportamento sintético da enzima. Sete classes distintas foram identificadas: alfa; mu; pi; sigma; theta; kappa e zeta (LANDI, 2000). Entre essas proteínas citosólicas, destacam-se as codificadas pelos genes *GSTM1* (classe mu), *GSTT1* (classe teta) e *GSTP1* (classe pi) com relação à suscetibilidade ao câncer, pois, geralmente, apresentam perda da forma isoenzimática e conseqüentemente redução da eficiência catalítica da enzima com diminuição da detoxificação celular (HAYES; PULFORD, 1995).

1.2.1.2.1 Gene *GSTM1*

A classe μ inclui pelo menos cinco genes que codificam igual número de enzimas: *GSTM1*, M2, M3, M4 e M5. O gene *GSTM1* está mapeado em 1p13.3, e é polimórfico na população humana, apresentando quatro variantes *GSTM1**A, *GSTM1**B, *GSTM1**C e *GSTM1**O. Os dois primeiros não têm, aparentemente, diferenças com relação ao tipo de substrato, e o alelo *C é muito raro. A variante *O (alelo nulo) causa perda da atividade da enzima nas formas homozigotas, que está associada com redução da eficiência da ligação a substratos genotóxicos, incluindo epóxidos derivados de PAHs e aflatoxinas, (HAYES; PULFORD, 1995; GATTÁS et al., 2004).

A frequência do genótipo nulo (*GSTM1**O) varia significativamente em diferentes populações (BOARD et al., 1990), dependendo do grupo étnico a que ele pertence. Widersten et al. (1991) relataram diferentes frequências para este genótipo: 58% em chineses, 52% em ingleses, 48% em japoneses, 43% em franceses, e um valor significativamente menor em nigerianos (22%). Outros estudos relataram que a ausência do gene *GSTM1* ocorre em cerca de 23 a 48% em populações africanas, 33 a 63% em populações asiáticas, 51 a 54% na população australiana (COTTON et al., 2000), 41,7% na população norte-americana (SEIDEGARD et al., 1990) e 55% na população brasileira (ARRUDA et al., 1998). Especificamente no norte do Paraná, 48,86% da população apresentou genótipo *GSTM1* nulo, sendo 47,88% em caucasianos (LOSIGUEMBAROVSKI et al., 2002).

Uma vez que essas enzimas catalisam a conjugação da glutatona com muitos xenobióticos (PAHs presentes na dieta alimentar e na fumaça do cigarro, vários pesticidas e poluentes ambientais), sua ausência poderia reduzir a capacidade de um organismo em detoxificar metabólitos reativos. Assim, estudos epidemiológicos têm sugerido que indivíduos homozigotos nulos para *GSTM1* podem possuir um risco aumentado para o desenvolvimento de diversas neoplasias (MILLIKAN et al., 2000). Dentre elas, destacam-se os cânceres de pulmão, bexiga, cólon, pele, mama, cérebro, cavidade oral, renal e testicular (HIRVONEN et al., 1993; ZHONG et al., 1993; RAUNIO et al., 1995; HARRIES et al., 1997; CONFORTI-FROES et al., 1997; ELZEIN et al., 1997b; DELBANCO et al., 2001; KANETSKY et al., 2001; KIETTHUBTHEW et al., 2001). Com relação ao câncer de próstata, muitos estudos também têm encontrado uma associação positiva entre o genótipo *GSTM1* nulo e o desenvolvimento desta neoplasia (WILLIAMS et al., 2000; MURATA et al., 2001; AKTAS et al., 2004; AGALLIU et al., 2006; LIMA-JR et al., 2008). Existem trabalhos que

não encontraram associações quando analisaram o genótipo isoladamente, como os de Srivastava et al. (2008) e Murata et al. (1998). Entretanto, quando estes autores combinaram os genótipos de risco destes genes, como o *GSTM1* nulo e *GSTT1* nulo (OR=2,24; IC95%=1,37-3,65), ou também *GSTM1* nulo e o alelo CYP1A1 (G/G) (OR=2,3; IC95%=1,184,48), as associações se tornaram evidentes.

1.2.1.2.2 Gene *GSTT1*

Do mesmo modo que o gene *GSTM1*, o gene *GSTT1*, mapeado em 22q11.2, é outro gene que se apresenta polimórfico por deleção (alelo selvagem normal *GSTT1**1, alelo nulo *GSTT1**O). Esta consiste da deleção total ou parcial do gene, resultando na perda de atividade da enzima *GSTT1* (ROSSIT et al., 1999). Este gene é expresso nas células do fígado, pulmão, rins, cérebro, músculo esquelético, coração, intestino, baço e próstata (PAVANELLO; CLONFERO, 2000).

As frequências do genótipo nulo descritas na literatura são menores do que as descritas para o gene *GSTM1*. Há indicações de que a única exceção ocorra em asiáticos, que apresentam uma frequência do genótipo *GSTT1*-nulo variando de 46 a 58% em chineses e de 42 a 46% em coreanos (GEISLER; OLSHAN, 2001). Em uma amostra da população brasileira, as frequências descritas foram de 26,3% em negros, 22,3% em brancos e 17,2% em mulatos (GATTÁS et al., 2004). Outro estudo mostrou uma frequência de, respectivamente, 18,5% e 19% em indivíduos brancos descendentes de caucasianos e africanos (ARRUDA et al., 1998).

As conseqüências biológicas do genótipo *GSTT1* nulo são difíceis de prever, uma vez que a enzima apresenta propriedades tanto de detoxificação quanto de ativação de muitos poluentes ambientais (HAYES; PULFORD, 1995).

Estudos epidemiológicos têm sugerido que o genótipo *GSTT1* nulo também pode estar associado com um aumento no risco para o desenvolvimento de muitas neoplasias, como tumores de cabeça e pescoço e pulmão (MATTHIAS et al., 1999; LANDI, 2000), bexiga (GRANDO et al., 2008), colo retal (REBBECK, 1997), pele (RAMACHANDRAN et al., 2001) e astrocitoma (HAND et al., 1996). Também foi observado um aumento significativo na frequência do genótipo *GSTT1* nulo em pacientes portadores de carcinoma de próstata (34%) quando comparados aos controles (11%) (MITTAL et al., 2004). Outros

estudos não encontraram uma associação significativa quando este genótipo foi analisado isoladamente, como mostrado por Srivastava et al. (2005), que estudaram esta variante alélica em japoneses e australianos. Entretanto, combinações de genótipos de risco com outras variantes de genes do biometabolismo demonstraram associação positiva com vários tumores, incluindo próstata (COTTON et al., 2000; ENGEL et al., 2002; NAKAZATO et al., 2003; SRIVASTAVA et al., 2005; NTAIS et al., 2005; LIMA-JR et al. 2008).

2 JUSTIFICATIVA

O câncer é um dos principais problemas mundiais de saúde pública. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2008), de um total de 58 milhões de mortes ocorridas no mundo em 2005, o câncer foi responsável por 7,6 milhões (OMS, 2006). Estima-se que em 2020 o número de casos novos anuais será da ordem de 15 milhões, sendo que 60% destes novos casos deverão ocorrer em países em desenvolvimento. Ainda de acordo com a OMS, estudos epidemiológicos utilizando metodologias moleculares têm fornecido importantes informações para um melhor conhecimento sobre a suscetibilidade individual e fatores de risco para muitas doenças, além de contribuir para a compreensão dos mecanismos pelos quais elas se desenvolvem.

O câncer de próstata vem se destacando como o tipo de tumor sólido mais freqüentemente diagnosticado em homens, sendo, no Brasil, o segundo tipo de câncer com maior taxa de mortalidade (INCA, 2008). Apesar das altas taxas de incidência e de mortalidade, os mecanismos moleculares envolvidos na oncogênese e na sua progressão ainda são pouco claros. Por esta razão, a busca por marcadores moleculares tem se intensificado nos últimos anos.

Entre os marcadores moleculares mais pesquisados estão os marcadores de suscetibilidade, os quais buscam diferenças genéticas na capacidade das células de metabolizar carcinógenos/mutágenos e repararem lesões no DNA. Assim, a presença de variantes alélicas polimórficas, especialmente em genes responsáveis pela metabolização de muitos carcinógenos como os sistemas CYP1A1, CYP1B1, CYP3A4, *GSTM1* e *GSTT1*, poderá contribuir no desenvolvimento de marcadores moleculares para o câncer de próstata.

Com esta ferramenta será possível definir direções futuras na pesquisa do diagnóstico e prognóstico do câncer de próstata, principalmente visando à obtenção de biomarcadores mais sensíveis e de maior poder discriminatório (FERREIRA; ROCHA, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar, em um estudo de associação do tipo caso-controle, as frequências de variantes alélicas polimórficas de genes das superfamílias do Citocromo P450 e da Glutathione S-transferase em pacientes de Londrina e região com confirmação de carcinoma de próstata.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Determinar as frequências genotípicas das variantes polimórficas CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 e *GSTT1**0, correlacionando-as com a suscetibilidade ao câncer de próstata em 170 pacientes;
- 2 Realizar um estudo de associação do tipo caso-controle, comparando os genótipos dos pacientes portadores de câncer (n=170) aos do grupo controle (n=170) pareado por idade, grupo étnico e estilo de vida (hábitos tabagista e etilista);
- 3 Correlacionar os resultados genéticos obtidos aos dados epidemiológicos, clínicos e de prognóstico.

4 ARTIGO

4.1 EPIDEMIOLOGIA DO CARCINOMA DE PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO PARANAENSE

Iara Sant'Ana Rodrigues, Hellen Kuasne, Roberta Losi-Guembarovski, Henrique Mitsu Matsuda, Marina Okuyama Kishima, Kazuhiro Ito, Paulo Emílio Fuganti, Émerson Pereira Gregório, Marco Aurélio de Freitas Rodrigues, Ilce Mara de Syllos Cólú

Trabalho a ser submetido à Revista:

World Journal Urology
Fator de impacto: 2.27
ISSN: 0724-4983 – SPRINGER-VERLAG

EPIDEMIOLOGIA DO CARCINOMA DE PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO PARANAENSE

Iara Sant'Ana¹ Rodrigues, Hellen Kuasne¹ Roberta Losi-Guembarovski¹ Henrique Mitsu Matsuda¹, Marina Okuyama Kishima⁴; Kazuhiro Ito^{2,4}, Paulo Emílio Fuganti², Émerson Pereira Gregório², Marco Aurélio de Freitas Rodrigues³ Ilce Mara de Syllos Cólui¹.

Resumo

O câncer de próstata é o segundo tipo de câncer mais freqüente diagnosticado em homens ocidentais, sendo relatados anualmente, mais de 200 mil casos. Embora exaustivamente pesquisado, o papel dos fatores de risco na gênese deste tumor permanece, ainda, não muito bem compreendido. Desta forma, este estudo teve como objetivos contribuir (i) para a avaliação do impacto de alguns fatores de risco para o desenvolvimento desta neoplasia (idade, etnia, exposição ocupacional a agrotóxicos, história familiar de câncer, etilismo, tabagismo, consumo de carnes vermelhas) e (ii) para a identificação de fatores prognósticos de importância comprovada tais como dosagem de PSA, graduação histológica do tumor utilizando o Sistema Gleason, estadiamento, entre outras, em 170 portadores de carcinoma de próstata provenientes da cidade de Londrina (PR) e região. A idade média dos pacientes foi de $65,66 \pm 7,593$ anos e a etnia predominante foi euro descendente (90,6%). Quanto ao estilo de vida, 15,3% dos pacientes apresentavam hábito tabagista, 37% eram etilistas, 86,47% consumiam carne vermelha frequentemente, 49,41% apresentavam parentes afetados com câncer e 60% tinham sido expostos a agrotóxicos por mais de 10 anos. Dentre os fatores prognósticos, a dosagem de PSA foi de 4,1–10ng/ml em 58% dos pacientes e de 10,1–20ng/ml em 39,41%. A graduação no sistema Gleason apresentou escore 5-6 em 85 pacientes (50%), escore 7 em 64 (37,6%) e escore 8-10 em 20 pacientes (11,8%). Sendo que 67 pacientes (39,41%) apresentaram estadiamento T2bN0 e T2cN0 e 21 pacientes (12,36%) T3cN0/1e T4N0/1. Este estudo indicou a exposição ocupacional a agrotóxicos como importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer de próstata. Os dados obtidos no presente estudo contribuirão para o conhecimento do perfil sócio-econômico de pacientes da região sul do Brasil e para a caracterização dos possíveis fatores de risco para o câncer de próstata nesta população miscigenada.

Palavras-chave: Câncer de próstata. Fatores de risco. Fatores prognósticos. Paraná-Brasil.

¹ Departamento de Biologia Geral, CCB, Universidade Estadual de Londrina - Londrina, PR, Brasil. Tel: +5543-33714191; Fax: +55 43-33714527 Endereço eletrônico: colus@sercomtel.com.br

² Hospital do Cancer de Londrina - Londrina, PR, Brasil

³ Departamento de Cirurgia, CCS, Universidade Estadual de Londrina - Londrina, PR, Brasil. Autor Correspondente:

⁴ Departamento de Patologia, CCS, Universidade Estadual de Londrina – Londrina, PR, Brasil.

Introdução

O câncer de próstata transformou-se num grande problema de saúde pública, com taxas de morbidade e mortalidade significativas. A American Cancer Society [1] estimou que, durante 2008, aproximadamente 186.320 novos casos de câncer de próstata seriam diagnosticados nos Estados Unidos. No Brasil é considerado o tipo de câncer mais freqüente em todas as regiões do país, tendo sido de 49.530 para 100 mil homens o número de casos novos diagnosticados estimado para 2008. O risco estimado para cada 100 mil homens desta doença nas diferentes regiões do país foi de 69 na região Sul, 63 na região Sudeste, 47 na região Centro-Oeste, 38 na região Nordeste e 22 na região Norte [2]. Segundo o Instituto Nacional do Câncer [2], as taxas de incidência de câncer de próstata sofreram um aumento progressivo devido às novas metodologias de detecção precoce da doença, especialmente através do exame do antígeno prostático específico (PSA), aplicado sob a forma de triagem populacional, simultaneamente com a aplicação da pistola para biópsia e ao aumento na expectativa de vida da população [2,3].

Em termos de valores absolutos, o câncer de próstata é o sexto tipo de câncer mais comum no mundo, representando cerca de 10% do total de cânceres. As taxas de incidência desta neoplasia são cerca de seis vezes maiores nos países desenvolvidos comparados aos países em desenvolvimento [1].

De acordo com a Sociedade Americana de Cancerologia, para a detecção precoce do câncer em indivíduos sem sintomas, preconiza-se o toque retal e o PSA sérico anuais a partir de 50 anos de idade. Um estudo publicado recentemente demonstrou que a triagem de homens em idade acima de 50 anos através do toque retal e do PSA e seu tratamento com a prostatectomia radical diminuiu a mortalidade e a incidência de metástases quando comparados aos pacientes não tratados [4]. Considera-se que se fossem feitos estes exames preventivos, seriam evitadas cerca de 10.000 mortes ao ano [1].

Apesar da etiologia desta doença permanecer desconhecida, dados clínicos e epidemiológicos sugerem que o desenvolvimento do câncer de próstata é um processo multifatorial, dependente da interação de fatores de risco, como idade, etnia, história familiar de câncer, exposição ocupacional, etilismo, tabagismo, dieta, entre outros [3].

Fatores de Risco

Idade, Etnia e História Familiar

O carcinoma da próstata é considerado uma doença da terceira idade, uma vez que cerca de três quartos dos casos no mundo ocorrem a partir dos 65 anos, pois os mais idosos acumulam, por um período de tempo mais longo, exposições potencialmente carcinogênicas, capazes de produzir disfunção celular e multiplicação atípica [5]. Carter et al. [6] mostraram que 20% dos homens com idade de 50 a 60 anos e 50% com idades de 70 a 80 tem evidências histológicas de malignidade. É estimado que homens com 50 anos tenham um risco de 42% de desenvolver câncer de próstata histológico, um risco de 9,5% de doença clínica, e um risco de 2,9% de morrer pela doença. O achado histológico não indica necessariamente a manifestação clínica da neoplasia, uma vez que em cada dez cânceres histologicamente diagnosticados, um não progredirá [6].

A incidência do câncer de próstata apresenta uma variação regional e racial. Pollock et al. [3] afirmam que a incidência de câncer de próstata clínico e sua mortalidade são baixas na Ásia e altas na Europa e na América do Norte, tendo a América Latina e o sul da Europa, taxas intermediárias. Estudos epidemiológicos mostraram que a doença é aproximadamente 60% mais alta na população negra americana do que em brancos. A incidência do câncer clínico é cerca de oito vezes menor na população chinesa e japonesa do que em caucasianos norte-americanos [7]. Entretanto, não se observa esta diferença em relação à frequência do carcinoma de próstata histopatológico [8]. Cantrell et al. [9] observaram que a frequência do câncer histológico sofre influência da idade, mas não da etnia, sendo possível que na sua gênese, haja influência de carcinógenos encontrados universalmente, que teriam seu efeito potencializado com o aumento da idade. Na fase de promoção da neoplasia o desenvolvimento do carcinoma clínico seria influenciado pelo fator étnico e por eventuais novos carcinógenos aos quais o paciente estaria exposto. Sommerkamp et al. [10] observaram que a frequência do câncer de próstata clínico em japoneses que migraram e fixaram residência nos Estados Unidos, era semelhante à observada para os norte-americanos. Tais achados indicaram possivelmente que fatores ambientais ou dietéticos eram os responsáveis pelo fenômeno.

No Brasil os dados de incidências de câncer de próstata não estão definidos. Segundo o INCA [2], observam-se as mais altas taxas de incidência no Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul, que são atribuídas a fatores de risco étnicos e ambientais dessas populações miscigenadas.

Antecedentes familiares têm particular importância no estudo desta doença, pois elevam o risco em três vezes ou mais para os descendentes de portadores deste tumor [6]. Existem famílias em que a incidência é muito superior aos valores da população em geral [5].

Quinze por cento dos homens que tem câncer de próstata tem um familiar de primeiro grau com esta doença. Estudos epidemiológicos indicam que homens com história de câncer na família apresentam diagnóstico de câncer com idade mais precoce, em média, 6 a 7 anos mais cedo do que indivíduos sem antecedentes afetados. Estes estudos estimam que 5 a 10 % de todos os casos de câncer de próstata que ocorrem com idade menor que 55 anos poderia ter como fator de risco a hereditariedade. Os cânceres hereditários não diferem clinicamente dos cânceres esporádicos [5].

Os pacientes com antecedentes familiares apresentam com maior frequência um valor menor de PSA (abaixo de 10 ng/mL). Ao confrontar os escores de Gleason com a presença ou ausência de antecedentes familiares para o câncer de próstata, 9% dos pacientes com um ou mais parentes acometidos apresentam escore de Gleason inferior a 8. Já 12% dos pacientes sem antecedentes apresentavam Gleason superior a 8. Estas características podem ser atribuídas a um diagnóstico precoce ou a neoplasias menos agressivas nos indivíduos com antecedentes familiares [3].

Dieta e Estilo de Vida

Fatores ambientais como a dieta e o estilo de vida poderiam explicar a diferença na incidência da forma clínica do câncer de próstata. Estudos epidemiológicos, em animais e em células em cultura demonstram a importância da dieta como um determinante exógeno que pode ser usado na prevenção e no tratamento do câncer [15].

Uma alimentação com altas concentrações de cálcio, gorduras saturadas e, aminas heterocíclicas encontradas em carnes grelhadas e carnes vermelhas pode aumentar o risco de desenvolver câncer de próstata [5,12,13].

Giovannuci et al. [14] demonstraram que homens que consumiam mais de 2.000 mg de cálcio diariamente tinham um risco cinco vezes maior de desenvolver metástases quando comparados com aqueles que consumiam menos de 500 mg por dia. Estes resultados indicam que o cálcio pode ter diferentes influências na carcinogênese prostática.

O mecanismo de como as gorduras saturadas ou carnes vermelhas podem influenciar no risco do desenvolvimento do câncer de próstata, ainda não está bem esclarecido. Entretanto, alguns estudos sugerem que o envolvimento do fator de crescimento do tipo insulina-1 (IGF-1), o metabolismo hormonal e os radicais livres, aumentam o risco de câncer de próstata, pois atuam em vários mecanismos bioquímicos envolvidos na multiplicação e proliferação celular [15,16].

O consumo de tabaco parece ser, entre os hábitos de vida do indivíduo, o fator de risco que aumenta significativamente a incidência e a mortalidade para alguns tipos de cânceres, como o câncer de bexiga, pulmão, cabeça e pescoço. No entanto, ainda há dados discordantes quanto aos cânceres de próstata e testículo. Sabe-se que o tabaco pode aumentar as chances de metástases e, conseqüentemente, as taxas de mortalidade para o câncer de próstata [14,17], devido à possível alteração nos níveis de hormônios esteróides. Em particular, o tabaco tem sido associado com altos níveis de testosterona e baixo nível de estradiol em homens [18,19]. Quanto ao consumo de bebidas alcoólicas, alguns estudos indicam uma associação positiva com o câncer de próstata, especialmente por conterem etanol, um composto capaz de formar aductos estáveis com proteínas e com o material genético [20,21].

Outros carcinógenos químicos como os agrotóxicos, também têm sido associados com o desenvolvimento de muitos cânceres [22]. Segundo a Organização Mundial da Saúde [23], há 20.000 óbitos por ano em conseqüência da manipulação, inalação e consumo indireto de agrotóxicos nos países em desenvolvimento, como o Brasil. A literatura demonstra que muitos trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos podem apresentar um aumento no risco de desenvolver câncer de próstata [22,24].

Vários estudos têm sido realizados na tentativa de estimar o total de tumores passíveis de prevenção, sendo que tais valores podem atingir 50% de todos os casos em países industrializados [25]. Assim, a maioria das neoplasias é, teoricamente, passível de prevenção, uma vez que achados epidemiológicos apontam um grande número de fatores etiológicos ambientais, tais como dieta e estilo de vida e fatores como etnia, idade e história familiar de câncer como interferentes nas taxas de incidência e mortalidade por câncer [5,14 – 16]. Desta forma, no presente trabalho foram analisados os dados epidemiológicos (idade, etnia, história familiar de câncer, tabagismo, etilismo, exposição ocupacional a agrotóxicos e consumo de carne vermelha) de e de fatores prognósticos no câncer de próstata de uma amostra de pacientes com carcinoma de próstata do estado do Paraná, com o objetivo de contribuir para uma caracterização desta neoplasia em uma população da região sul do Brasil.

Metodologia

Foram analisados 170 pacientes portadores de carcinoma de próstata, provenientes do Hospital do Câncer de Londrina (HCL) e de Clínicas Urológicas de Londrina (PR). A coleta foi feita mediante os seguintes critérios: paciente com diagnóstico

histopatológico da doença e submetido à prostatectomia radical, no período de coleta desta pesquisa (dezembro de 2006 a dezembro de 2008). Os pacientes submetidos à radioterapia ou quimioterapia foram excluídos da amostra.

Foi realizado um contato pessoal com cada paciente que recebeu as informações sobre os objetivos da pesquisa e o termo para a assinatura do Consentimento Informado, para posterior preenchimento do Questionário Padrão (referente ao seu estilo de vida, idade, etnia, entre outros) [26], aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina e Hospital do Câncer de Londrina (HCL). As informações sobre tabagismo e alcoolismo foram obtidas no momento da entrevista. Ex-fumantes com menos de 10 anos de abandono do tabagismo foram considerados como fumantes e indivíduos que consumiam pelo menos uma vez por semana bebida alcoólica foram considerados etilistas. A classificação da etnia foi baseada na auto classificação do indivíduo.

As informações referentes aos parâmetros histopatológicos foram obtidas da análise histológica de rotina (coloração de HE), seguindo a padronização de laudos histopatológicos da Sociedade Brasileira de Patologia para peças cirúrgicas de prostatectomia radical com ou sem linfadenectomia.

Os parâmetros avaliados a partir das informações obtidas das entrevistas, das análises histopatológicas e dos prontuários foram: idade, etnia, tabagismo, etilismo, história familiar de qualquer tipo de câncer, exposição ocupacional a agrotóxicos, consumo de carne vermelha, nível do antígeno prostático específico, tipo histológico, graduação histológica no Sistema Gleason, volume tumoral, invasão perineural extensão extraprostática, comprometimento de vesículas seminais, margens cirúrgicas, metástase linfonodal e estadiamento.

Foi realizado um estudo comparativo através do cálculo da Odds Ratio com intervalo de confiança de 95% com indivíduos controles sem história de câncer de próstata do Laboratório de Mutagênese e Oncogenética da Universidade Estadual de Londrina, que apresentavam as mesmas características do paciente, quanto a idade, etnia e hábitos tabagista e etilista, para verificar significância estatisticamente significativa entre as características da amostra que se apresentavam em alta frequência.

Resultados

A Tabela 1 apresenta as características demográficas e comportamentais da amostra estudada. Esta amostra foi majoritariamente composta por indivíduos euro

descendentes (90,6%), com média de idade de $65,66 \pm 7,593$ anos. Destes, 26 indivíduos (15,3 %) tinham o hábito tabagista (1 ou mais maço de cigarro por dia) e 63 (37%) eram consumidores freqüentes de bebidas alcóolicas (mais de dez copos por semana). Cento e quarenta e sete pacientes (86,47%) declararam que consumiam carne vermelha com freqüência (no mínimo 3 a 4 vezes por semana). Dos 170 pacientes estudados, 102 tiveram exposição ocupacional por mais de 10 anos a agrotóxicos. Oitenta e quatro pacientes (49,41%) declararam história familiar de câncer, tendo relatado a existência de pelo menos um parente de primeiro grau afetado por câncer.

Na Tabela 2 estão apresentados dados obtidos da análise dos parâmetros histopatológicos. Pode-se observar que 64 pacientes (37,65%) possuíam extensão extracapsular do tumor, que estava relacionada aos estadiamentos pT3a. Dezoito pacientes (10,59%) mostraram comprometimento de vesículas seminais (pT3b). A invasão perineural e de linfonodos (pTxN1) foi evidenciada em, respectivamente, 22,35% e 4,11% dos indivíduos e a bilateralidade em 50% deles. A maioria dos indivíduos da amostra apresentou média de níveis de PSA de $10,54 \pm 7,597$. Com relação ao escore de Gleason, 50% da amostra eram escores 5 e 6. No estadiamento do tumor (Tabela 2), 67 pacientes, a maior percentagem, (39%), encontravam no estágio T2bNo e T2cNo, onde o tumor compromete mais da metade de 1 lobo (T2b), ou ambos os lobos prostáticos (T2c). Os estágios T3cNo e T4No (tumor com extensão extracapsular e invasão de estruturas adjacentes, respectivamente) tiveram 12,36% de casos.

Discussão

Segundo Pollock [3], o câncer de próstata é uma doença de homens idosos, com pico de incidência e mortalidade por volta da sétima década de vida. Isaacs [27] afirma que a incidência de câncer de próstata aumenta de forma logarítmica a partir dos cinquenta anos, tanto em sua prevalência histológica (latente), quanto clínica. Entretanto, o achado histológico não indica necessariamente a manifestação da patologia, uma vez que em cada dez cânceres histologicamente diagnosticados, um não progredirá [27]. A probabilidade de desenvolver adenocarcinoma de próstata aumenta 0,005% em indivíduos com idade < 39 anos, 2,2% (1 em 45) para idades entre 40 a 59 anos e 13,7% (1 em 7) para idades entre 60 a 79 anos [1,5]. De acordo com Parkin et al. [28], 75% do total dos casos são diagnosticados em homens com 65 anos ou mais. Os dados do presente trabalho corroboram tal afirmação, pois a idade média de acometimento para esta neoplasia foi de $65,66 \pm 7,593$.

A incidência do câncer de próstata apresenta uma grande variação regional e racial, sendo maior na população negra, que entre os brancos [29,30]. Aparentemente essa diferença étnica se dá pelos níveis de testosterona circulante em cada etnia [7]. Paschoalin et al. [31], investigando a prevalência do carcinoma de próstata na cidade de Ipirá (Bahia – Brasil), relataram uma maior prevalência do tumor em negros do que em indivíduos brancos. Na amostra avaliada neste trabalho, apenas 9,4% (n=16) dos homens eram afro-descendentes, sendo os demais (90,6%) euro descendentes. Assim, nossos dados não confirmam a hipótese acima. Isto se deve, provavelmente, ao pequeno número de negros presentes nesta amostra. Deve-se salientar, porém, que de acordo com Arruda et al. [32], a origem étnica da população brasileira é altamente heterogênea e é composta por ancestrais indígenas, com imigrantes europeus, africanos e asiáticos.

Parra et al [33] ao analisarem o mtDNA em quatro regiões do Brasil, encontraram predominância de linhagens Ameríndias na região Norte (Amazônia), Africanas no Nordeste, um equilíbrio no Sudeste e uma predominância Européia na região Sul. A composição dos grupos imigrantes estabelecidos na região paranaense foi bastante heterogênea, compreendendo poloneses, alemães, italianos, franceses, suíços, ingleses e outros. Desses grupos, os poloneses constituíram o maior contingente. Deve-se lembrar, no entanto, que os indivíduos analisados no presente estudo eram provenientes do norte do Paraná, onde juntamente com os grupos já citados, houve uma grande imigração proveniente de outros Estados, principalmente do estado de São Paulo. A população negra e mulata nunca foi numerosa no Paraná. Com a imigração vinda do exterior e, posteriormente, com a crescente imigração proveniente de outros Estados, a população do Paraná aumentou consideravelmente com o passar dos anos. Mas a composição étnica da população manteve-se semelhante nos diversos períodos, sendo predominantemente Européia, seguida de uma pequena proporção Afro-descendente, Asiática e Ameríndia [34]. Neste sentido, o presente estudo pode contribuir, também, com estudos epidemiológicos futuros sobre a incidência do câncer de próstata em uma população do norte do Paraná, sul do Brasil.

História familiar de câncer também é um possível fator de risco para o desenvolvimento de câncer de próstata, pois há um risco elevado em três vezes ou mais para os descendentes de portadores de câncer [5,6]. O indivíduo com um parente em primeiro grau que seja portador de carcinoma de próstata tem um risco 2,2 vezes superior à população em geral de desenvolver a doença. Este risco duplica se existirem dois parentes desse mesmo grau e de 10,9 vezes quando três parentes de 1ª grau têm a doença [35]. Aproximadamente 49,4% dos pacientes, presentes no estudo declararam possuir pelo menos um parente de primeiro

grau com câncer, sendo os tipos de cânceres mais prevalentes os de próstata (18,24%) e os de cabeça e pescoço (9,42%). Nos casos de histórico familiar, recomenda-se que os homens façam exames preventivos a partir dos 40 anos [36]. Estudos mostram que o fator genético de suscetibilidade parece responder por apenas 13% dos casos de cânceres de próstata registrados [3]. Portanto, é importante relacionar este fato com a exposição ambiental a muitos carcinógenos químicos (solventes, aromáticos, clorados, agrotóxicos), físicos (radiações ionizantes e não ionizantes, campos eletromagnéticos) e biológicos (vírus, microorganismos) [37].

Existem muitas relações possíveis, entre as quais carcinógenos químicos presentes no tabaco e no álcool que podem aumentar os níveis de hormônios circulantes e relacionarem-se com alterações no crescimento e proliferação das células prostáticas [17]. Plaskon et al. [19] observaram que em homens de meia idade fumantes, o risco de desenvolver câncer de próstata em relação aos homens não fumantes era maior e que havia uma relação entre a quantidade de cigarros consumidos por dia e a agressividade da doença. Porém, ainda há dados discordantes quanto a estas associações e o câncer de próstata [14,21]. No presente estudo foram encontrados apenas 26 homens fumantes (15,3%), e 144 não fumantes (84,7%) (Tabela 1). Entre os fumantes, 19 eram usuários de cigarro comum, e 7 consumidores de cigarro de palha. Assim, visto o baixo número de consumidores de tabaco, não foi possível estabelecer uma ligação com o uso do tabaco e o câncer de próstata.

Hábitos etilistas também parece ser entre os hábitos de vida do indivíduo, o fator de risco que aumenta significativamente a incidência e a mortalidade para alguns tipos de cânceres, como o câncer de próstata [20,21,38]. Segundo Breslow e Weed [39], de 32 estudos revisados, somente seis encontraram associação entre o consumo de bebidas destiladas (vinho branco, licor) e não-destiladas (cerveja) e o câncer de próstata. Apesar disto, os autores observaram que muitos estudos mostraram uma maior suscetibilidade ao câncer em indivíduos etilistas, indicando uma possível relação com o risco. Aproximadamente 37% dos pacientes avaliados neste estudo apresentavam hábitos etilistas, sendo a maior parte consumidores de bebidas alcoólicas não-destiladas (onde a cerveja foi prevalente). Devido a maior parte da amostra (63%) não ser consumidora de bebidas alcoólicas, não foi encontrada relação entre o álcool e o desenvolvimento desta neoplasia (Tabela 1). Estes dados podem ser somados a outros já descritos na literatura, que também não encontraram uma possível relação do álcool com o câncer de próstata [21,35].

Dentre os carcinógenos químicos estão também os agrotóxicos, que podem induzir o câncer por mecanismos variados, como genotoxicidade e promoção de tumores

envolvendo mediadores hormonais, imunológicos e a produção de moléculas oxidantes (peróxidos) [40].

Nos Estados Unidos da América estima-se que anualmente ocorram cerca de 6.000 a 10.000 casos de câncer associados a agrotóxicos. Essa associação está melhor caracterizada nos cânceres de pulmão, mama, testículos, tireóide, sistema hematopoiético (linfomas não - Hodgkin, leucemias e mieloma múltiplo) e próstata [22,24,41].

No Brasil, Meyer et al. [42] mostraram uma alta taxa de mortalidade para cânceres de estômago, esôfago, laringe, oral e leucemias em agricultores expostos a agrotóxicos na região serrana do Rio de Janeiro. Já Koifman et al. [43] também descreveram o mesmo resultado nas neoplasias malignas de mama, ovário e próstata, em amostra de grupos populacionais expostos a agrotóxicos no período de 1985 a 1990.

Neste estudo, cerca de 60% dos pacientes eram expostos a agrotóxicos por pelo menos 10 anos, ou seja, de cada duas pessoas com carcinoma de próstata uma não era ocupacionalmente exposta. Nossos resultados, ao comparar a exposição ocupacional a agrotóxicos com o grupo controle sem história de câncer de próstata apresentou diferença estatisticamente significativa (OR=1,57; IC95%=1,02-2,42). Desta forma, podemos inferir que este pode ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento da doença, corroborando com alguns estudos da literatura, que também associaram a exposição ocupacional a agrotóxicos com câncer de próstata [44-47].

Várias evidências apontam para o importante papel da nutrição na prevenção do câncer. Considerando-se, especificamente, os possíveis efeitos da dieta sobre a progressão e sobrevida do câncer de próstata, os dados são relativamente limitados quanto à avaliação da ingestão de nutrientes como um fator prognóstico [13]. Existem alguns compostos da dieta que podem apresentar um potencial de proteção em relação à incidência desta neoplasia, como a ingestão de tomates, vegetais crucíferos, carotenóides, vitamina E, selênio, peixes, ácidos graxos da família ômega-3 e polifenóis [13,34,48], enquanto outros fatores como as altas concentrações de cálcio, zinco, gorduras saturadas, amins heterocíclicas encontradas em carnes grelhadas e carnes vermelhas podem aumentar o risco [5,13]. Ainda muitos dados são discordantes na literatura e há necessidade de um maior número de pesquisas para se estabelecer de forma mais clara a relação entre o consumo de carnes vermelhas e o risco para o câncer de próstata [49,50]. Nossa amostra apresentou 86,47% de consumidores freqüentes (3-4 vezes por semana) de carnes vermelhas, ou seja, de cada seis pessoas que comiam carne, apenas uma comia carne branca. Além das relações da carne vermelha como fator de risco para o desenvolvimento do câncer de próstata, o seu

consumo também tem sido evidenciado na progressão da doença. Apesar do elevado número de pacientes que se declarou consumidor frequente de carne vermelha nesta amostra, não podemos inferir que este fator possa ser considerado de risco para o desenvolvimento da doença, pois o consumo de carne vermelha no grupo de indivíduos controles também foi alto, não tendo sido observadas diferenças estatisticamente significativas (OR=0,90; IC 95%=0,48-1,70).

O grau de diferenciação, o estadiamento do tumor no momento do diagnóstico e a dosagem do nível do PSA são reconhecidos como fatores prognósticos de importância comprovada para o câncer de próstata, pois predizem a evolução da doença, tanto a localizada quanto a metastática [33] e oferecem precisão suficiente para permitir a tomada de decisões quanto ao tratamento [3].

Quando o tumor é detectado precocemente, é mais provável que este tenha uma localização regional e, conseqüentemente, um maior potencial de cura [51]. Na amostra estudada, 37,65% dos pacientes possuíam extensão extracapsular e 50% dos tumores apresentaram bilateralidade. Segundo a o sistema de classificação TNM [49] estes dados estavam relacionados aos estadiamentos pT3No, pT3aNo, pT3bNo ou pT3cNo Assim, os tumores obtidos da prostatectomia radical no presente estudo mostraram estágio de doença confinado no órgão e não apresentaram risco aumentado para metástase (Tabela 2).

Bostwick et al. [52] descreveram que, normalmente, o comprometimento das vesículas seminais se apresenta em aproximadamente 9% e o comprometimento linfonodal em 2% dos casos de câncer de próstata. Neste estudo, o comprometimento das vesículas seminais e a metástase linfonodal foram evidenciados, respectivamente, em 10,59% e 4,11% dos pacientes (Tabela 2). Assim, nossos dados reforçam as evidências apontadas pela literatura. Moritz et al. [53] afirmam que as chances de cura dos pacientes portadores de câncer de próstata diminuem significativamente quando o estadiamento patológico indica acometimento das margens cirúrgicas, penetração no tecido perineural, invasão das vesículas seminais e, finalmente, metástases locais ou distantes. Para o diagnóstico de câncer de próstata ter validade clínica é necessário que o estadiamento e a avaliação dos outros fatores prognósticos sejam realizados de forma adequada. Hoje não existe um índice prognóstico infalível, mas o uso de nomogramas com a combinação de diversas variáveis e a estratificação de riscos são capazes de melhor predizer a evolução da doença e portanto, será possível uma escolha do tratamento adequado de forma individualizada e definida após discutir os riscos e benefícios do mesmo [2, 48].

Nossos resultados corroboram os dados da literatura para adenocarcinomas de próstata, especialmente no que diz respeito à idade no momento do diagnóstico (predominância da faixa etária dos 60 anos) e a exposição a alguns fatores de risco, como os agrotóxicos. Os parâmetros relacionados ao processo tumoral caracterizaram a presença de tumores localizados, possivelmente tratáveis. É importante salientar que a composição étnica dos grupos imigrantes estabelecidos na região paranaense foi bastante heterogênea, predominando brancos, mas com ancestrais dos continentes europeu, africano e asiático. Desta forma, o presente estudo indicou que entre os fatores de risco para o carcinoma prostático, o mais relevante foi a exposição ocupacional a agrotóxicos. Esta informação tem grand importância epidemiológica, pois a região estudada é eminentemente agrícola. Os dados apresentados poderão, portanto, contribuir para a caracterização dos indivíduos com carcinoma de próstata e possivelmente para medidas de prevenção desta neoplasia.

Agradecimentos

Agradecemos ao Hospital do Câncer de Londrina (HCL), UROLIT (PR), CISMENPAR (Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paranapanema), Irmandade Santa Casa de Londrina, pelo fornecimento das amostras, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e Fundação Araucária pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa produtividade a Cólus, I.M.S.

Referências

- 1 American Cancer Society (2008). Estatística 2008. In: Cancer Facts & Figures 2008. http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp. 2008. Acessado 20 Dez 2008.
- 2 Instituto Nacional do Câncer (2008). Câncer de Próstata. In: Síntese de resultados e comentários. <http://www.inca.gov.br/estimativa> 2008. Acessado 15 Ago 2008.
- 3 Denis LJ, Gospodarowicz MK, Griffiths K (2006). Câncer de Próstata. In: UICC Manual de Oncologia Clínica (Pollock RE, Doroshow JH, Khayat D, Nakao A, O'Sullivan B). São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo, 8ª ed, pp584-598.
- 4 Bill-Axelsson A, Holmberg L, Filén F, Ruutu M et al (2008). Radical prostatectomy versus watchful waiting in localized prostate cancer: the Scandinavian prostate cancer group-4 randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 100:1144-54.
- 5 Crawford ED (2003). Epidemiology of Prostate Cancer. *Urol* 62:3-12

- 6 Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD et al (1990). Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 3367-337.
- 7 Whittemore AS, Wu AH, Kolonel LN et al (1999). Family history and prostate cancer risk in black, white and asian men in the United States and Canada. *Am J Epidemiol* 141:732-86.
- 8 Akazaki K, Stemmerman GN (1973). Comparative study of latent carcinoma of the prostate among Japanese in Japan and Hawaii. *J. Natl. Cancer Inst* 50(5):1137-44.
- 9 Cantrell BB et al (1981). Pathological factors that influence prognosis in stage A prostatic cancer: the influence of extent versus grade. *J Urol* 125:516-520.
- 10 Sommerkamp H et al (1990). Brachytherapy of Prostatic Cancer. In: Bruggmoser G, Sommerkamp H (ed) *Interstitial Radiotherapy of Prostate Cancer*, v. 40, p. 1564.
- 11 Stover PJ, and Garza C (2006). Nutrition and developmental biology-Implications for public health. *Nutr Rev* 64:60-71.
- 12 Hu J, La Vecchia C, DesMeules M et al (2008). Meat and fish consumption and cancer in Canada. *Nutr Cancer* 60:313-24.
- 13 Chan JM, Stampfer MJ, Ma J et al (2002). Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 94:1099-106.
- 14 Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A et al (1999). Smoking and risk of total and fatal prostate cancer in United States health professionals. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 8:277-82.
- 15 Ngo TH, Barnard RJ, Cohen P et al (2003). Effect of isocaloric low-fat diet on human LAPC-4 prostate cancer xenografts in severe combined immunodeficient mice and the insulin-like growth factor axis. *Clin Cancer Res* 9:2734-43.
- 16 Pollak MN, Schernhammer ES, Hankinson SE (2004). Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat Rev. Cancer* 4:505-18.
- 17 Levi F, La Vecchia C (2001). Tobacco smoking and prostate cancer: time for an appraisal. *Ann Onc* 12:733-8.
- 18 Ferrini RL, Barrett-Connor E (1998). Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community-dwelling men. *Am J Epidemiol* 147:750-4.
- 19 Plaskon LA, Penson DF, Vaughan TL, Stanford JL (2003). Cigarette smoking and risk of prostate cancer in middle-aged men. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 12:604-9.

- 20 Sharpe CR, Siemiatycki J (2001). Case-control study of alcohol consumption and prostate cancer risk in Montréal, Canada. *Cancer Causes Cont* 12:589-98.
- 21 Sommer F, Klotz T, Schmitz-Dräger BJ (2004). Lifestyle issues and genitourinary tumours. *World J Urol* 21:402-13.
- 22 Multigner L, Ndong JR, Oliva A et al (2008). Environmental pollutants and prostate cancer: Epidemiological data. *Gynécologie Obstétrique Fertilité* 36:848-56.
- 23 OMS: Organização Mundial de Saúde (2008). Cancer: WHO cancer control programme. <http://www.who.int/cancer/en/>. Acessado Dez 2008.
- 24 Boers D, Zeegers MP, Swaen GM et al (2005). The influence of occupational exposure to pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, diesel exhaust, metal dust, metal fumes, and mineral oil on prostate cancer: a prospective cohort study. *Occup Env Med* 62:531-7.
- 25 Tomatis L, Huff J, Hertz-Picciotto I et al (1997). Avoided and avoidable risks of cancer. *Carcinogenesis* 18:97-105.
- 26 Carrano AV, Natarajan AT (1988). International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation Research* 204: 379-406.
- 27 Isaacs JT (1983). Prostate structure and function in relation to etiology of prostatic cancer. *Prostate*, 4:351-66.
- 28 Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al (2005). Global cancer statistics, 2002. *Cancer J Clin* 55:74-108.
- 29 Ukoli F, Osime U, Akereyeni F et al (2003). Prevalence of elevated serum prostate-specific antigen in rural Nigeria. *Intern J Uro* 10:315–322.
- 30 Wiredu, EK; Armah, HB (2006). Cancer mortality patterns in Ghana: a 10-year review of autopsies and hospital mortality. *BMC Public Health* 6:159.
- 31 Paschoalin EL, Martins AC, Pastorello M et al (2003). Racial influence on the prevalence of prostate carcinoma in Brazilian volunteers. *Int Braz J Urol* 29:300-5.
- 32 Arruda VR, Grignolli CE, Gonçalves MS et al (1998). Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) and theta (*GSTT1*) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? *Clin Genet* 54: 210-214.
- 33 Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR et al (2002). Color and genomic ancestry in Brazilians. *Genet* 100:177-182.

- 34 Culpi L, Salzano FM (1984). Migration, genetic markers and race admixture in Curitiba, Brazil. *J Bios Sci* 16:127-135.
- 35 Srougi M (2005). Câncer da próstata: uma opinião médica. In: Artigo especial. 4. Gomes R, Rebello LEFS, Araújo FC et al (2006). A prevenção do câncer de próstata: uma revisão da literatura. *Ciênc Saúde Colet* 12:235-246.
- 36 Gomes R, Rebello LEFS, Araújo FC et al (2006). A prevenção do câncer de próstata: uma revisão da literatura. *Ciência e Saúde Coletiva*, 12: 235-246.
- 37 Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK (2003). Genética do Câncer humano. In: *Mutagênese ambiental*. Canoas: Ed. ULBRA. Cap. 2, p. 29-48.
- 38 Rohrmann S, Linseisen J, Key TJ et al (2008). Alcohol consumption and the risk for prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Prev* 17:1282-7.
- 39 Breslow RA, Weed DL (1998). Review of epidemiologic studies of alcohol and prostate cancer: 1971-1996. *Nutr Cancer* 30:1-13.
- 40 Rodvall Y, Dich J, Wiklund K (2003). Cancer risk in offspring of male pesticide applicators in agriculture in Sweden. *Occup Env Med* 60:798-801.
- 41 Pimentel D (1996). Green revolution agriculture and chemical hazards. *Sci Total Env* 188(1):86-98.
- 42 Meyer A, Chrisman J, Moreira JC et al (2003). Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research*, 93:264-71.
- 43 Koifman S, Koifman RJ, Meyer A (2002). Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saúde Publica* 18:435-45.
- 44 Alavanja MC, Samanic C, Dosemeci M et al (2003). Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort. *Am J Epidemiol* 157: 800-814.
- 45 Rusiecki JA, Roos A, Lee WJ et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, Washington, 96:1375-82 (2004).
- 46 Bassil KL, Vakil C, Sanborn M, et al (2007). Cancer health effects of pesticides Systematic review. *Canadian Family Physician*, Mississauga, 53: 1705-1711.
- 47 Gronberg H (2003). Prostate Cancer Epidemiology. *Lancet* 361:859-64.

48 Key TJ, Silcocks PB, Davey GK et al (1997). A case-control study of diet and prostate cancer. *Brit J Cancer* 76:678-687.

49 Villeneuve PJ, Johnson KC, Kreiger N et al (1999). Risk factors for prostate cancer: Results from Canadian National Enhanced Cancer Surveillance System –The Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Cancer Causes Cont* 10:355-367.

50 Ripple GH, Wilding G (1999). Drug development in prostate cancer. *Semin Oncol* 26:217-226.

51 American Joint Committee on Cancer / International Union Against Cancer (UICC) (2002). *TNM, Classification of Malignant Tumours*, 6th ed. New York, Wiley-Lis. pp.184-187.

52 Bostwick DG, Qian J, Schlesinger MD (2003). Temporary pathology of prostate cancer. *Urol Clin North Am* 30:181-297.

53 Moritz R, Srougi M, Ortiz V et al (2005). Desdiferenciação do câncer da próstata após terapia antiandrogênica. *Rev Assoc Méd Bras* 51: 117-20.

Tabela 1 – Características demográficas e comportamentais de pacientes com carcinoma de próstata (n=170).

Variáveis Categorias	Casos
Idade	
Variação	42-80
Média ± DP	65,66 ± 7,593
Etnia n (%)	
Euro descendentes	154 (90,6%)
Afro descendentes	16 (9,4%)
Hábito de Tabagista n (%)	
Sim	26 (15,3%)
Não	144 (84,7%)
Hábito de Etilista n (%)	
Sim	63 (37%)
Não	107 (63%)
História Familiar de Câncer n (%)	
Sim	84 (49,41%)
Não	86 (50,59%)
Exposição a Agrotóxicos n (%)	
Sim	102 (60%)
Não	68 (40%)
Consumo de Carne n (%)	
Carne vermelha	147 (86,47%)
Carne Branca	23 (13,53%)

Tabela 2 – Parametros histopatologicos dos portadores de cancer de prostata presentes no estudo.

Parâmetros (categorias)	Números de Pacientes	(%)
PSA ng/ml		
>0-4	4	2,36
4.1-10	99	58,23
10.1-20	67	39,41
Escore de Gleason		
2-4	1	0,7
5-6	85	50
7	64	37,6
8-10	20	11,7
Estadiamento		
T2No e T2aNo	35	20,59
T2bNo e T2cNo	67	39,41
T3aNo e T3bNo	47	27,64
T3cNo/1 e T4No/1	21	12,36
Extensão Extraprostática		
Sim	64	37,65
Não	106	62,35
Comprometimento de vesículas		
Sim	18	10,59
Não	152	84,41
Invasão Perineural		
Presença	38	22,35
Ausência	132	77,65
Metástase linfonodal		
Presença	7	4,11
Ausência	163	95,89
Bilateralidade		
Sim	85	50
Não	85	50

4.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 e *GSTT1**0 no Câncer de Próstata

Iara Sant'Ana Rodrigues, Hellen Kuasne, Roberta Losi-Guembarovski, Henrique Mitsu Matsuda, Marina Okuyama Kishima, Kazuhiro Ito, Paulo Emílio Fuganti, Émerson Pereira Gregório, Marco Aurélio de Freitas Rodrigues, Ilce Mara de Syllos Cólú

Trabalho a ser submetido à Revista:

Anticancer Research

Fator de impacto: 1.479

ISSN: 0250-7005 - International Institute of Anticancer Research, Greece.

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 e *GSTT1**0 no Câncer de Próstata

Iara Sant'Ana¹ Rodrigues, Hellen Kuasne¹ Roberta Losi-Guembarovski¹ Henrique Mitsu Matsuda¹, Marina Okuyama Kishima⁴; Kazuhiro Ito^{2,4}, Paulo Emílio Fuganti², Émerson Pereira Gregório², Marco Aurélio de Freitas Rodrigues³, Ilce Mara de Syllos Cólus¹.

Resumo

O câncer de próstata se constitui na forma mais comum de câncer em homens e é a segunda causa de óbito por neoplasias no sexo masculino. Polimorfismos genéticos em genes do Citocromo P-450 (CYPs) e das Glutathione S-transferases (GSTs) podem influenciar no aparecimento de tumores, pois levam à formação de enzimas com atividades alteradas. No presente estudo cinco variantes alélicas polimórficas foram estudadas em 170 pacientes submetidos à prostatectomia radical com diagnóstico histopatológico da doença e em 170 controles sem evidência de carcinoma de próstata. As análises foram realizadas por PCR-alelo específica para as variantes CYP1A1*2B e CYP1B1*2, PCR-RFLP para a variante CYP3A4*1B e PCR-Multiplex para as variantes *GSTT1**0 e *GSTM1**0. O cálculo da OR (Odds ratio) e do intervalo de confiança (IC=95%) foi utilizado no estudo de associação e os testes do Qui-Quadrado com tendência, Fisher e MannWhitney na avaliação dos parâmetros histopatológicos. O estudo de associação caso-controle indicou ausência de associação positiva ou negativa para as seguintes variantes genéticas estudadas: CYP1A1*2B – OR=1,03, IC 95%= 0,64-1,66; *GSTM1**0 – OR= 0,64, IC 95%=0,420,98; *GSTT1**0 – OR= 1,03, IC 95%=0,64-1,66. A análise estatística apontou para uma associação positiva significativa das variantes CYP1B1*2 (OR=1,55, IC 95%=0,98-2,47) e CYP3A4*1B (OR=1,51, IC 95%=0,97-2,37) para o câncer de próstata, estando os resultados no limite da significância. A análise combinada dos genótipos mostrou associação positiva significativa para as combinações das variantes CYP1A1*2B, CYP1B1*2 e CYP3A4*1B (OR=2,55, IC 95%=1,085,99). A análise dos parâmetros histopatológicos com os genótipos de suscetibilidade não detectou diferenças estatisticamente significativas, exceto em relação a variante CYP1A1*2B para invasão perineural (p=0,0382), a variante *GSTT1**0 isoladamente (p=0,0295) e em combinação com a variante *GSTM1**0 (p=0,0251) e a combinação dessas duas variantes de fase II com a variante CYP3A4*1B (p=0,0291), mostraram estatisticamente significativas para grau histológico. Nossos resultados indicaram que algumas variantes polimórficas analisadas isoladamente ou em combinação podem influenciar no desenvolvimento e na progressão do câncer de próstata.

¹ Departamento de Biologia Geral, CCB, Universidade Estadual de Londrina - Londrina, PR, Brasil. Tel: +5543-33714191; Fax: +55 43-33714527 - colus@sercomtel.com.br

² Hospital do Cancer de Londrina - Londrina, PR, Brasil

³ Departamento de Cirurgia, CCS, Universidade Estadual de Londrina - Londrina, PR, Brasil.

⁴ Departamento de Patologia, CCS, Universidade Estadual de Londrina – Londrina, PR, Brasil.

Palavras-chave: Câncer de próstata. Genes do biometabolismo. Suscetibilidade genética. Polimorfismos.

Introdução

O câncer de próstata transformou-se num grande problema de saúde pública mundial, com morbidade, mortalidade e perda de qualidade de vida significativas. O carcinoma prostático tornou-se o mais freqüente tumor sólido diagnosticado (1), com pico de incidência por volta da sétima década de vida e a segunda causa de morte por câncer em homens na Europa, Estados Unidos, América Latina e algumas partes da África. No Brasil os dados de incidências não estão bem definidos. Segundo o Instituto Nacional de Câncer, observam-se as mais altas taxas de incidência nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul, sendo estas atribuídas a fatores de risco étnicos e ambientais (2).

A etiologia desta doença permanece desconhecida, porém, dados clínicos e epidemiológicos sugerem que o desenvolvimento do câncer de próstata é um processo multifásico, dependente da interação de fatores genéticos e ambientais (1). Diferenças genéticas individuais, como a presença de variantes alélicas em enzimas envolvidas na biotransformação de carcinógenos são possíveis fatores de risco para esta neoplasia (3).

O sistema de biotransformação de drogas compreende duas classes de enzimas: as do metabolismo oxidativo mediado, ou de Fase I, como a superfamília do Citocromo P450 (CYPs), e as enzimas conjugadas, ou de Fase II, como as do complexo das glutatona S-transferases (GSTs). Alterações nestas fases resultam no acúmulo de espécies eletrofílicas, que tem capacidade de se ligarem ao DNA e induzirem mutações que podem estimular a proliferação celular (4).

Os genes, CYP1A1, CYP1B1 e CYP3A4 pertencem à família de enzimas de Fase I e estão expressos em células normais e tecidos tumorais prostáticos (5). Os genes CYP1A1 e CYP1B1 participam da oxidação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), aminas aromáticas e esteróides. A presença da variante alélica polimórfica CYP1A1*2B leva à troca de um nucleotídeo no éxon 7 (A→G) (6), e está relacionada ao aumento da atividade catalítica deste gene. O polimorfismo no códon 119 do gene CYP1B1 (CYP1B1*2), uma transição guanina-timina (G→T) (7), também resulta na formação de enzimas variantes com atividade aumentada em relação à proteína selvagem, podendo aumentar a suscetibilidade ao câncer de próstata (8-10). O gene CYP3A4 está envolvido com a bioativação de esteróides, lipídeos, carcinógenos e drogas utilizadas clinicamente (11) e a

transição adenina-guanina (A→G) na região promotora 5' (5'PR), gerada pela presença da variante alélica CYP3A4*1B está associada com a diminuição da expressão ou diminuição da atividade catalítica da enzima CYP3A4 (12). Esta ocorre em alta frequência em afro-americanos portadores de carcinoma de próstata, sendo ainda associada com alto grau e estágio tumoral avançado (12).

Os genes *GSTM1* e *GSTT1* catalisam a conjugação da Glutathiona (GSH) com diferentes espécies de compostos eletrofilicos, como o benzo(a)pireno e outros PAHs presentes no tabaco, tornando-os mais facilmente excretáveis (13) e também atuam na proteção contra produtos do estresse oxidativo (14). Estes genes são polimórficos por deleção completa e o fenótipo nulo da enzima leva a uma menor capacidade de metabolizar diversos substratos (15). Genótipos *GSTM1* e/ou *GSTT1* nulos estão associados a um aumento de risco para câncer de bexiga, pulmão, colorretal e de cabeça e pescoço (16-18); assim, como ao câncer de próstata (19), pois poderiam reduzir a capacidade de um organismo detoxificar metabólitos reativos e aumentar os níveis de aductos de DNA, trocas entre cromátides irmãs e mutações somáticas nas células prostáticas (20).

Como a presença destes polimorfismos varia entre os diferentes grupos étnicos e pelo fato de possuírem um papel importante na biotransformação de agentes ambientais e endógenos, sua genotipagem se torna fundamental na validação do potencial de risco ou proteção para diferentes tumores malignos, incluindo o de próstata. Desta forma, o objetivo proposto neste estudo foi analisar a associação das variantes polimórficas CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 e *GSTT1**0 quanto à suscetibilidade ao câncer de próstata, além de associar as frequências observadas com aspectos histopatológicos do tumor.

Matérias e Métodos

Caracterização da Amostra

Este estudo utilizou uma abordagem do tipo caso-controle de base-hospitalar. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 170 pacientes provenientes do Hospital do Câncer de Londrina (HCL) e de Clínicas Urológicas de Londrina (PR), que foram submetidos à prostatectomia radical com diagnóstico histopatológico da doença e de 170 homens sem evidência de carcinoma de próstata (grupo controle - PSA menor do que 2ng/ml e toque retal não suspeito de neoplasia). Os indivíduos do grupo controle eram provenientes do

CISMEPAR (Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paranapanema) e da Irmandade Santa Casa de Londrina e foram pareados aos pacientes quanto à idade (± 5 anos), grupo étnico (euro-descendente, asiáticos e afro-descendentes) e hábitos (tabagista e etilista). Os indivíduos ex-fumantes que abandonaram o hábito tabagista há 10 anos ou menos foram considerados como fumantes e indivíduos que consumiam pelo menos uma vez por semana bebida alcoólica foram considerados etilistas. Pacientes submetidos à radioterapia ou quimioterapia foram excluídos da amostra. A tabela 1 apresenta as características demográficas e comportamentais da amostra estudada.

Tabela 1 – Características demográficas e comportamentais de pacientes com carcinoma de próstata (n=170).

Variáveis Categorias	Casos
Idade	
Variação	42-80
Média \pm DP	65,66 \pm 7,593
Etnia n(%)	
Euro descendentes	154 (90,6%)
Afro descendentes	16 (9,4%)
Hábito de Tabagista n (%)	
Sim	26 (15,3%)
Não	144 (84,7%)
Hábito de Etilista n (%)	
Sim	63 (37%)
Não	107 (63%)
História Familiar de Câncer n (%)	
Sim	84 (49,41%)
Não	86 (50,59%)
Exposição a Agrotóxicos n (%)	
Sim	102 (60%)
Não	68 (40%)
Consumo de Carne n (%)	
Carne vermelha	147 (86,47%)
Carne Branca	23 (13,53%)

Foi realizado um contato pessoal com cada doador que recebeu as informações sobre os objetivos da pesquisa e o termo para a assinatura do Consentimento Informado, para posterior coleta do material e preenchimento do Questionário Padrão (referente ao seu estilo de vida) (21) aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina, Hospital do Câncer de Londrina (HCL), CISMENPAR e da Irmandade Santa Casa de Londrina.

Isolamento do DNA e Genotipagem

A análise genotípica foi realizada com amostras de sangue periférico. O DNA genômico foi extraído por salting out (22). Os primers utilizados para a reação em cadeia da polimerase (PCR) foram desenhados de acordo com o Banco de Dados Genômicos (GDB www.gdb.org). A Tabela 2 apresenta as condições da reação de amplificação e a seqüência de iniciadores para cada variante alélica estudada.

Tabela 2 – Sequências iniciadoras e condições de reação para a análise das variantes CYP1A1*2B (23), CYP1B1*2 (7), CYP3A4*1B (24), *GSTM1**0 e *GSTT1**0 (25).

Gene	Primer	Seqüência	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Ciclo
<i>CYP1A1</i>	CYP1A1-R (A)	AAGACCTCCCAGCGGGCAAT	94°C, 60s	70°C, 1min e 30s	72°C, 2min	30
	CYP1A1-F (W)	GAA AGG CTG GGT CCA CCC TCT				
	CYP1A1-R (G)	AAG ACC TCC CAG CGGGCAAC				
<i>CYP1B1</i>	CYP1B1- F (G)	GGCCTTCGCCGACCGGCCGG	94°C, 30s	69°C, 30s	72°C, s	35
	CYP1B1 –R (W)	GAAGTTGCGCATCATGCTGT				
	CYP1B1-F (T)	GGCCTTCGCCGACCGGCCGT				
<i>CYP3A4</i>	CYP3A4 –F	GGAATGAGGACAGCCATAGAGACAAG GGGA	95°C, 60s	60°C, 1min30s	72°C, 2min	30
	CYP3A4-R	CCTTTCAGCTCTGTGTTGCTCTTTGCTG				
<i>GSTM1</i>	GSTM1-R	GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC	94°C, 5min	59°C, 60s	72°C, 1min	30
	GSTM1-F	GTTGGGCTAAATATACGGTGG				
<i>GSTT1</i>	GSTT1-F	TTCCTTACTGGTCTCACATCTC				
	GSTT1-R	TCACCGGATCATGGCCAGCA				
<i>CYP1A1</i> (controle interno)	CYP1A1-F CYP1A1-R	GAACTGCCACTTCAGCTGTCT CAGCTGCATTTGGAAGTGCTC				
Enzima de restrição MboII	Seqüência de clivagem 5'GAAGA(N)8 ↓3'	Condições de reação restrição 37°C por 12 horas				

Variante polimorfica CYP1A1*2B: a variante polimorfica CYP1A1*2B (A/G) foi avaliada por meio da reacao de PCR alelo-especifica (23) modificada. A PCR foi feita em um volume total de reacao de 25 nL, contendo 100ng de DNA, tampao de reacao 1x (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4; KCl 50mM), 2 mM MgCl₂, 2mM de cada dNTP, 10pMol de cada primer, 1,25U de AmpliTaq DNA polimerase e agua ultra pura esteril. Nesta reacao foi utilizado controle negativo (agua ultra pura esteril). As condicoes de amplificaco por meio da PCR alelo-especifica estao descritas na Tabela 2. Os produtos da amplificaco foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 2% corados com brometo de etideo e fotografados sob luz ultravioleta. A reacao de amplificaco deste fragmento gerou um produto de 340pb, que pode ser visualizado na forma de uma ou duas bandas no gel, dependendo se o individuo possuia o genotipo prevalente (A/A), heterozigoto (A/G) ou raro (G/G) (Figura 1).

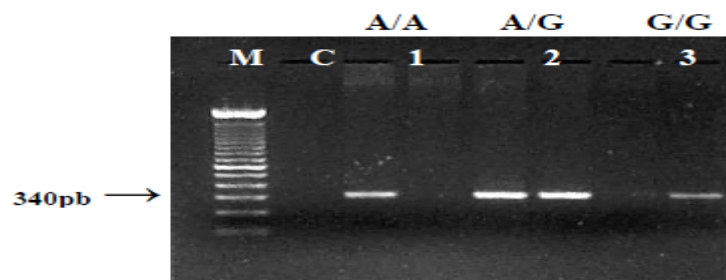


Figura 1 – Padrao de bandas da variante polimorfica CYP1A1*2B. 1: individuo prevalente (A/A); 2: individuo heterozigoto (A/G); 3: individuo raro (G/G); C: controle negativo (agua); M: marcador de peso molecular DNA Ladder (100 pb).

Variante polimorfica CYP1B1*2: a variante polimorfica CYP1B1*2 (G/T) foi avaliada pela tecnica PCR alelo especifica (7) modificada. A PCR foi feita em um volume total de reacao de 15 nL, contendo 100ng de DNA, tampao de reacao 1x (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4; KCl 50mM), 1,5 mM MgCl₂, 0,8 mM de cada dNTP, 10pMol de cada primer, 0,5U de AmpliTaq DNA polimerase e agua ultra pura esteril. Nesta reacao foi utilizado controle negativo (agua ultra pura esteril). As condicoes de amplificaco por meio da PCR aleloespecifica estao descritas na Tabela 2. Os produtos da amplificaco foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 2%, corados com brometo de etideo e fotografado sob luz ultravioleta. A reacao de amplificaco deste fragmento gerou um produto de 130pb, que pode ser visualizado na forma de uma ou duas bandas no gel, dependendo se o individuo possuia o genotipo prevalente (G/G), heterozigoto (G/T) ou raro (T/T) (Figura 2)

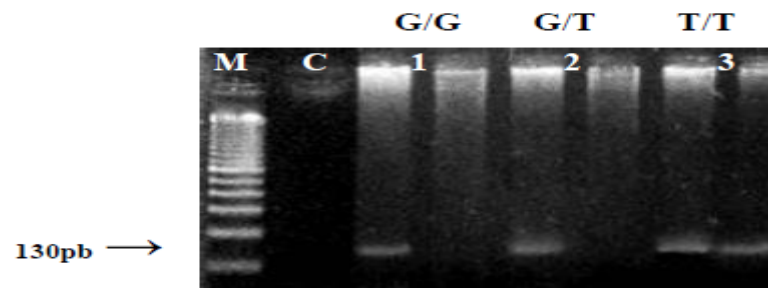


Figura 2 – Padrão de bandas da variante polimorfica CYP1B1*2. 1 e 2: indivíduo prevalente (G/G); 3: indivíduo heterozigoto (G/T); C: controle negativo (água); M: marcador de peso molecular DNA Ladder (100 pb).

Variante polimorfica CYP3A4*1B: a variante polimorfica CYP3A4*1B (A G) foi avaliada por meio da reação de PCR- RFLP (24). A PCR foi feita em um volume total de reação de 25 nL, contendo 100ng de DNA, tampão de reação 1x (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4; KCl 50mM), 2 mM MgCl₂, 2mM de cada dNTP, 10pMol de cada primer, 1,0U de AmpliTaq DNA polimerase e água ultra pura esteril. Nesta reação foi utilizado controle negativo (água ultra pura esteril). As condições de amplificação por meio da PCR aleloespecifica estão descritas na Tabela 2. Os produtos amplificados foram submetidos a clivagem com a enzima de restrição MboII (5U; Amersham Pharmacia Biotech) no volume final de reação de 15 nL e submetidos a eletroforese em gel de agarose 3%, corados com brometo de etideo e fotografado sob luz ultravioleta. Os iniciadores (Tabela 1) originam um produto de amplificação de 385pb, que após a clivagem, originam três possíveis genótipos: o genótipo homozigoto raro (G/G) possui um sítio para a enzima de restrição Variante polimorfica CYP3A4*1B: a variante polimorfica CYP3A4*1B (A G) foi avaliada por meio da reação de PCR- RFLP (24). A PCR foi feita em um volume total de reação de 25 nL, contendo 100ng de DNA, tampão de reação 1x (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4; KCl 50mM), 2 mM MgCl₂, 2mM de cada dNTP, 10pMol de cada primer, 1,0U de AmpliTaq DNA polimerase e água ultra pura esteril. Nesta reação foi utilizado controle negativo (água ultra pura esteril). As condições de amplificação por meio da PCR aleloespecifica estão descritas na Tabela 2. Os produtos amplificados foram submetidos a clivagem com a enzima de restrição MboII (5U; Amersham Pharmacia Biotech) no volume final de reação de 15 nL e submetidos a eletroforese em gel de agarose 3%, corados com brometo de etideo e fotografado sob luz ultravioleta. Os iniciadores (Tabela 1) originam um produto de amplificação de 385pb, que após a clivagem, originam três possíveis genótipos: o genótipo homozigoto raro (G/G) possui um sítio para a enzima de restrição MboII, que cliva o produto, gerando duas bandas de 210, 175 e 41 pb; o genótipo

prevalente (A/A) equivale as bandas de 175, 169 e 41 pb e o heterozigoto (A/G) corresponde as 4 bandas de 210, 175, 169 e 41 pb como mostra a Figura 3.

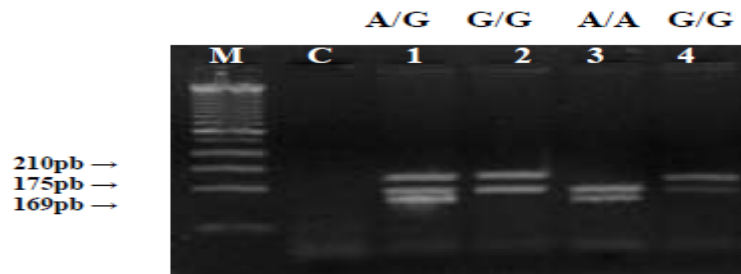


Figura 3 – Padrao de bandas da variante polimorfica CYP3A4*1B. 1: individuo heterozigoto (A/G); 3: individuo prevalente (A/A); 2 e 4 individuo raro (G/G); C: controle negativo (agua + reagentes); M: marcador de 100 pb.

Variantes polimorficas *GSTM1*O* e *GSTT1*O*: as variantes polimorficas *GSTM1*O* e *GSTT1*O* foram avaliadas por meio de PCR Multiplex (25), modificada. A PCR foi feita em um volume total de reacao de 25 nL, contendo 100ng de DNA, tampao de reacao 1x (Tris-HCl 20 mM, pH 8,4; KCl 50mM), 2 mM MgCl₂, 2mM de cada dNTP, 10pMol de cada primer, 1,25U de AmpliTaq DNA polimerase e agua ultra pura esteril. Nesta reação foram utilizados controles negativo (agua ultra pura esteril) e positivo (gene CYP1A1) que originou um fragmento nao polimorfico de 312 pb. As condicoes de amplificacao por meio da PCR-multiplex estao descritas na Tabela 2. Os produtos da amplificacao foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 2% corados com brometo de etideo e fotografado sob luz ultravioleta. Os fragmentos de 215 pb e 480 pb foram observados nos individuos *GSTM1* e *GSTT1* positivos, respectivamente. A ausencia de amplificacao das variantes *GSTM1*0* (215 pb) ou *GSTT1*0* (480 pb), na presenca do controle interno, indica os respectivos genotipos nulos para cada variante ou para ambas (Figura 4).

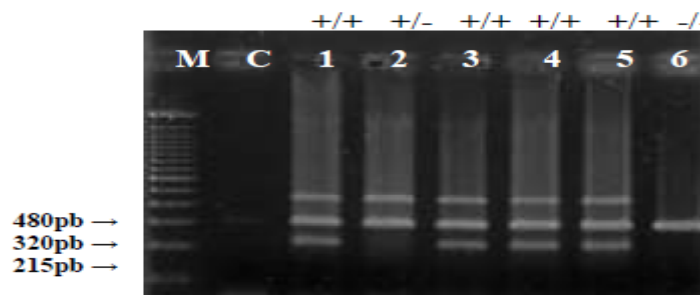


Figura 4 – Padrao de bandas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* (CYP1A1: controle interno). 1, 3, 4 e 5 individuo *GSTT1+* e *GSTM1+*; 2: individuo *GSTT1+*; 6: individuo *GSTM1* e *GSTT1* nulo; C: controle negativo (agua + reagentes). M: marcador de 100 pb.

Análise Estatística dos Dados

O teste t de Student foi utilizado para comparar as médias de idade entre pacientes e controles.

Para analisar a associação entre as variantes polimórficas e o câncer de próstata, foi comparado o total de pacientes com o de indivíduos controles, utilizando tabelas de contingência 3X2 para os genes CYP1A1, CYP1B1 e CYP3A4 e 2X2 para os genes *GSTM1* e *GSTT1* (heterozigotos não identificados), estimados pelo cálculo da Odds Ratios (ORs) e do Intervalo de Confiança a 95% (IC).

A análise conjunta de genótipos raros e/ou heterozigotos foi realizada através de tabelas de contingência 2X2, considerando-se combinações genótípicas de enzimas de Fase I, de Fase I e Fase II e apenas de Fase II.

Os valores de OR e respectivos IC foram determinados com o auxílio do programa DPP Braile Biomedical (<http://www.braile.com.br>).

Para a análise dos sete parâmetros histopatológicos (escore de Gleason, extensão extracapsular, comprometimento de vesículas seminais, invasão perineural, bilateralidade, comprometimento linfonodal e estadiamento) com os genótipos raros e/ou heterozigotos isoladamente e considerando as combinações genótípicas de genótipos de Fase I, de Fase I e Fase II e apenas de Fase II foi utilizado o teste exato de Fisher. O teste do Qui-Quadrado com tendência foi realizado para a análise do grau histológico do carcinoma com os genótipos considerados de risco.

O teste t de Student foi utilizado para a avaliação do nível de PSA com os genótipos dos genes CYP1B1, CYP3A4 e *GSTT1*. Já para os genes CYP1A1 e *GSTM1* foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

A possível associação dos parâmetros histopatológicos com os genótipos foi realizada com o auxílio do programa estatístico InStatData e o valor de $p < 0,05$ foi adotado como limite de significância.

Resultados

A amostra foi majoritariamente composta por euro-descendentes (90,6%). Observamos que 26 pacientes (15,3 %) tinham o hábito tabagista e 63 (37%) eram etilistas. A média de idade dos pacientes foi $65,66 \pm 7,593$ anos e a média da idade dos controles foi

63,64 ± 8,518 anos, apresentando uma diferença estatisticamente significativa ($t=3,068$; $P=0,0013$) entre elas (Tabela 1).

Estudo de Associação

A Tabela 3 apresenta a distribuição dos genótipos raros, heterozigotos e prevalentes, ORs e IC a 95% e a associação combinada das variantes alélicas abordadas neste estudo.

Tabela 3 – Distribuição dos genótipos raros, heterozigotos e prevalentes, ORs e intervalos de confiança 95% em pacientes com câncer de próstata (n=170) e indivíduos controles sem história de câncer de próstata (n=170)

Gene	Controles		Pacientes		OR	(IC 95%)
	n		n			
	GHR	GP	GHR	GP		
<i>CYP1A1 (A/G)</i>	21	124	36	123	1,73	0,95 - 3,13
<i>CYP1A1 (G/G)</i>	25	124	11	123	0,44	0,21 - 1,01
<i>CYP1A1(A/G+G/G)</i>	46	124	47	123	1,03	0,64 - 1,66
<i>CYP1B1 (G/T)</i>	58	61	70	45	1,64	0,97 - 2,75
<i>CYP1B1 (T/T)</i>	51	61	55	45	1,46	0,85 - 2,51
<i>CYP1B1 (G/T+T/T)</i>	109	61	125	45	1,55	0,98 - 2,47*
<i>CYP3A4 (A/G)</i>	40	118	50	102	1,45	0,88 - 2,37
<i>CYP3A4 (G/G)</i>	12	118	18	102	1,74	0,80 - 3,77
<i>CYP3A4 (A/G+G/G)</i>	52	118	68	102	1,51	0,97 - 2,37*
<i>GSTM1</i>	97	73	78	92	0,64	0,42 - 0,98
<i>GSTT1</i>	46	124	47	123	1,03	0,64 - 1,66
<i>CYP1A1/CYP1B1/CYP3A4</i>	8	162	19	151	2,55	1,08 - 5,99*
<i>GSTM1 / GSTT1</i>	35	35	26	144	0,70	0,40 - 1,22
<i>CYP1A1/GSTM1 / GSTT1</i>	5	165	6	164	1,21	0,36 - 4,03
<i>CYP1B1/GSTM1 / GSTT1</i>	26	44	17	153	0,62	0,32 - 1,18
<i>CYP3A4/GSTM1 / GSTT1</i>	7	63	12	158	1,77	0,68 - 4,61

GHR: genótipo raro e/ou heterozigoto; GP: genótipo prevalente; OR: Odds Ratio; n: número de indivíduos da amostra. * significância estatística.

Os resultados do estudo de associação das variantes estudadas, *CYP1A1*2B*, *GSTM1*0* e *GSTT1*0*, indicaram ausência de associação positiva ou negativa com relação à suscetibilidade ao câncer de próstata (Tabela 3). A análise das variantes

CYP1B1*2 e CYP3A4*1B apontou para uma associação positiva significativa para o câncer de próstata, estando os resultados no limite da significância.

Ao analisar os genótipos heterozigotos e/ou raros de forma conjunta, se observou associação positiva para a combinação das variantes CYP1A1*2B, CYP1B1*2 e CYP3A4*1B em um risco de 2,55 vezes maior para o desenvolvimento do câncer de próstata (Tabela 3).

Análise dos Parâmetros Histopatológicos

Os genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) das cinco variantes estudadas no presente trabalho foram correlacionados com diferentes parâmetros: escore de Gleason, extensão extracapsular, comprometimento de vesículas seminais, invasão perineural, comprometimento linfonodal, bilateralidade, estadiamento do tumor e nível de PSA.

Não foram observadas diferenças significativas quando os pacientes com genótipos raros e/ou heterozigotos foram comparados com os prevalentes para nenhum dos seguintes parâmetros: extensão extracapsular, comprometimento de vesículas, invasão perineural, comprometimento linfonodal, bilateralidade e estadiamento do tumor. No entanto, quando o parâmetro invasão perineural foi analisado frente aos dados da variante CYP1A1*2B, obteve-se um resultado estatisticamente significativo (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos pacientes portadores de câncer de próstata com genótipos raros e/ou heterozigotos (GHR) e prevalentes (GP) com presença ou ausência de extensão extracapsular (EC), comprometimento de vesículas (CV), invasão perineural (IP), bilateralidade (B) e invasão de linfonodos (IL). * $p \leq 0,05$.

Variante Polimórfica		EC		CV		IL		IP		B	
		P	A	P	A	P	A	P	A	P	A
<i>CYP1A1*2B (A/G)</i>	GP	51	72	13	110	5	118	31	92	63	60
	GHR	15	32	5	42	1	46	5	42	20	27
	p	0,2935		1,000		1,000		0,0382*		0,3913	
<i>CYP1B1*2 (G/T)</i>	GP	21	24	23	22	2	43	11	34	23	22
	GHR	45	80	62	63	5	120	22	103	62	63
	p	0,2172		1,000		1,000		0,3797		1,000	
<i>CYP3A4*1B (A/G)</i>	GP	43	59	11	91	5	118	22	80	41	61
	GHR	23	45	7	61	1	46	15	53	33	35
	p	0,3355		0,4382		1,000		1,000		0,3437	
<i>GSTM1*0</i>	GP	35	57	12	80	4	88	18	74	42	50
	GHR	36	42	6	72	3	75	19	59	41	37
	p	0,393		0,3214		1,000		0,4625		0,4417	
<i>GSTT1*0</i>	GP	50	73	14	109	7	116	9	38	61	62
	GHR	17	30	3	44	0	47	29	97	23	24
	p	0,7259		0,449		0,1919		0,6812		1,000	
<i>CYP1A1*2B/ CYP1B1*2/ CYP3A4*1B</i>	GP	61	90	18	133	7	144	36	115	76	76
	GHR	5	14	0	19	0	19	1	18	7	11
	p	0,3197		1,000		1,000		0,0782		0,4580	
<i>GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	GP	55	88	17	134	7	138	31	113	70	73
	GHR	11	16	1	18	0	25	6	20	13	14
	p	0,8324		0,6968		1,000		0,8018		1,000	
<i>CYP1A1*2B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	GP	64	100	18	133	7	159	37	129	82	84
	GHR	2	4	0	19	0	4	0	4	1	3
	p	1,000		0,2272		1,000		0,577		0,6209	
<i>CYP1B1*2/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	GP	59	93	18	133	7	145	33	119	76	76
	GHR	7	11	0	19	0	18	4	14	7	11
	p	1,000		0,2272		1,000		1,000		0,4580	
<i>CYP3A4*1B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	GP	62	96	18	133	7	151	34	126	77	80
	GHR	4	8	0	19	0	12	3	7	5	7
	p	0,7678		0,2272		1,000		0,4550		0,7669	

A análise do escore de Gleason (teste Qui-Quadrado com Tendência) no total de pacientes com genótipos raros e/ou heterozigotos e genótipos prevalentes frente a todas as variantes estudadas não indicou diferença estatisticamente significativa, com exceção da variante *GSTT1*0* isoladamente, em combinação com a variante *GSTM1*0* e na

combinação dessas duas variantes de fase II com a variante CYP3A4*1B, onde se observou uma tendência linear significativa (Tabela 5).

Tabela 5 – Distribuição dos pacientes com genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) com diferentes escores de Gleason

Variante Polimórfica	Escore 2 a 4		Escore 5 a 6		Escore 7		Escore 8 a 10		X ² com tendência (p)
	GP	GHR	GP	GHR	GP	GHR	GP	GHR	
<i>CYP1A1*2B (A/G)</i>	0	1	65	23	47	17	11	6	0,0900 (0,7640)
<i>CYP1B1*2 (G/T)</i>	1	0	26	75	16	39	3	11	0,07839 (0,7795)
<i>CYP3A4*1B (A/G)</i>	1	0	52	35	36	29	13	4	0,2602 (0,6100)
<i>GSTM1*0</i>	1	0	55	41	39	28	7	9	0,6465 (0,4214)
<i>GSTT1*0</i>	1	0	62	31	43	15	17	1	4,735* (0,0295)
<i>CYP1A1*2B/ CYP1B1*2/ CYP3A4*1B</i>	1	0	76	9	56	6	21	1	0,4150 (0,5194)
<i>GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	1	0	56	16	70	10	17	0	5,016* (0,0251)
<i>CYP1A1*2B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	1	0	82	3	66	1	17	0	0,9456 (0,3308)
<i>CYP1B1*2/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	1	0	79	11	55	7	17	0	1,123 (0,2893)
<i>CYP3A4*1B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	1	0	78	11	62	2	16	0	4,763* (0,0291)

*p ≤ 0,05

As médias dos níveis de PSA dos pacientes com genótipos raros, heterozigotos e prevalentes para os cinco SNPs estão apresentados na tabela 6. Os resultados das análises relativas aos níveis de PSA não demonstraram diferenças estatisticamente significativas para nenhuma das variantes analisadas.

Tabela 6 – Distribuicao dos pacientes com genótipos heterozigotos e/ou raros (GHR) e prevalentes (GP) com diferentes medias dos niveis do antígeno prostático benigno (PSA)

Variante Polimórfica	Genótipo Prevalente	Genótipo Heterozigoto e/ou Raro	P
	N ($\bar{X} \pm SD$)	N ($\bar{X} \pm SD$)	
<i>CYP1A1*2B (A/G)</i>	123 (10,63±8,868)	47 (10,56±5,70)	0.9600
<i>CYP1B1*2 (G/T)</i>	45 (10,59±8,006)	125 (10,496±7,445)	0.9433
<i>CYP3A4*1B (A/G)</i>	102 (10,466±7,340)	68 (10,54±8,006)	0.9506
<i>GSTM1*0</i>	92 (10,2717±8,29)	78 (10,5864±6,7541)	0.7890
<i>GSTT1*0</i>	123 (10,678±7,601)	47 (9,979±7,6431)	0.5930
<i>CYP1A1*2B/ CYP1B1*2/ CYP3A4*1B</i>	151 (10,5980±7,96)	19 (9,584±3,396)	0,5369
<i>GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	144 (10,608±7,36)	26 (10,1092±9,035)	0,5287
<i>CYP1A1*2B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	165 (10,579±7,63)	5 (10,044±6,692)	0,5907
<i>CYP1B1*2/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	152 (10,655±7,9)	18 (9,0894±4,3609)	0,5385
<i>CYP3A4*1B/ GSTM1*0/ GSTT1*0</i>	158 (10,6653±7,93)	12 (8,284±3,762)	0,5511

N= numero de individuos

$\bar{X} \pm SD$: Media \pm Desvio Padrao

*p ≤ 0,05

Discussão

A American Cancer Society (26) estimou que, durante o ano de 2008, aproximadamente 186.320 novos casos de câncer de próstata seriam diagnosticados nos Estados Unidos. No Brasil, o número de casos novos diagnosticados estimados para 2008 foi

de 49.530 para 100 mil homens. Estes valores correspondem a um risco estimado de 52 casos novos a cada 100 mil homens (2).

Embora exaustivamente pesquisado, o papel dos fatores ambientais e genéticos na gênese do câncer de próstata permanece, ainda, não muito bem compreendido. Alguns estudos enfatizam a provável associação desta doença com componentes dietéticos, fatores ambientais e estilo de vida (27) além de fatores genéticos, como a presença de variantes polimórficas em enzimas metabolizadoras de xenobióticos (19).

Neste trabalho foram analisadas variantes polimórficas nos genes CYP1A1, CYP1B1, CYP3A4, *GSTM1* e *GSTT1* e a possível suscetibilidade ao câncer de próstata. A escolha destas variantes polimórficas alélicas justifica-se por seu potencial como marcadores de suscetibilidade para diferentes tipos de câncer, uma vez que participam da via metabólica dos esteróides, drogas terapêuticas, arilamidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, indicando indivíduos ou populações com diferenças na suscetibilidade ao câncer de próstata.

Dados clínicos e epidemiológicos sugerem que o desenvolvimento do câncer de próstata é um processo multifásico (27). Segundo Carter et al. (28), 20% de homens com idade entre 50 a 60 anos e 50% com idade entre 70 a 80 anos apresentam evidências histológicas de malignidade. Homens com 50 anos têm um risco estimado de 42% de desenvolvimento histológico, um risco de 9,5% de desenvolvimento clínico da doença e um risco de 2,9% de morrer desta neoplasia (27). A maior parte dos portadores de câncer de próstata do presente estudo (50,7%) pertencia à faixa etária de 60 a 69 anos (Tabela 1). Esses dados confirmam que o carcinoma de próstata é uma doença associada com a idade, com pico de incidência por volta da sétima década de vida (1).

Segundo a American Cancer Society (26), afroamericanos apresentam as maiores taxas de câncer de próstata no mundo (275,3 por 100.000 homens), sendo esta incidência 60% maior que nos brancos (172,9 por 100.000). Na amostra avaliada neste trabalho, apenas 16 homens (9,4%) eram afro-descendentes, o que pode explicar a não concordância dos dados obtidos para a presente amostra com a proporção descrita na literatura (Tabela 1). Deve-se salientar, porém, que de acordo com Arruda et al. (29), a origem étnica da população brasileira é altamente heterogênea, e é composta por ancestrais indígenas, com imigrantes europeus, africanos e asiáticos. Neste sentido, os dados do presente estudo poderão contribuir com estudos epidemiológicos futuros sobre a incidência de câncer de próstata em populações de diferentes regiões brasileiras, incluindo o sul do Brasil, onde os negros são menos representados do que em outras regiões.

Variantes polimórficas raras nos genes que metabolizam xenobióticos, como os da superfamília Citocromo P450 (CYP) e os da família Glutathione S-transferase (GST) podem aumentar a quantidade de carcinógenos nas células, pois geram um acúmulo de muitos aductos de DNA, pela ineficiência de inativação ou excreção de carcinógenos ativados (30). Danos no DNA gerados do acúmulo de aductos afetam diretamente as vias de sinalização do estresse celular e/ou vias de reparo a danos, resultando em instabilidade genômica, hipermutabilidade e iniciação tumoral. Além disso, os níveis das enzimas CYPs também estão relacionados com as vias de transdução de sinal, que alteram o ciclo celular, levando à promoção e progressão tumoral (31).

A associação entre polimorfismos de base única no gene CYP1A1 e câncer, como os de pulmão, mama, ovário, bexiga e próstata tem sido bem documentada (4,32-35).

Estudos caso-controle têm associado a variante alélica polimórfica CYP1A1*2B ao risco de câncer de próstata (8,36). Quiñones et al. (37) demonstraram, em uma população japonesa, que o genótipo CYP1A1*2B apresentou um risco significativamente aumentado para o câncer de próstata (OR=2,6; 95% IC=1,11–6,25). Os dados do presente estudo (OR= 1,03; IC 95%= 0,64 -1,66) (Tabela 3) não confirmam tais achados, mas corroboram os de Silig et al. (38) (OR=0,9; IC 95%: 0,5–1,9) e Figer et al. (39) (OR=1,6; IC 95%: 0,6–3,8), que estudaram, respectivamente, populações chinesa e israelense, e também não encontraram associação positiva quanto ao desenvolvimento da doença.

Similar à enzima codificada por CYP1A1, a enzima CYP1B1 pode ativar diversas compostos ambientais e pró carcinógenos presentes na dieta, além de ter papel na metabolização de hormônios esteróides, incluindo estrógenos, testosterona e progesterona. Mutações de ponto no sítio de ligação-heme do gene CYP1B1, especialmente o polimorfismo no códon 119, que promove uma substituição de uma alanina (Ala) por uma serina (Ser), foi relacionado com o aumento da atividade catalítica da enzima (10). Desta forma, este genótipo pode ser um fator de risco para muitos tumores, como os de mama (10), pulmão (40), renal (41) e prostático (7,9). Nossos dados apontam para uma associação significativa dos genótipos G/T e T/T com a suscetibilidade ao câncer de próstata, estando os resultados estatísticos no limite da significância (OR= 1,55, IC 95%= 0,98-2,47) (Tabela 3). Diante deste resultado, os genótipos heterozigotos e raros para a variante CYP1B1*2 podem ser considerados de risco para o câncer de próstata.

Outros polimorfismos vem sendo associados com tumores de próstata, incluindo aqueles responsáveis pelo crescimento e diferenciação da glândula prostática, como os observados nos genes para receptor de vitamina D e CYP3A4. Há relatos que a presença da

variante polimórfica CYP3A4*1B aumenta o risco de desenvolvimento de câncer de próstata devido ao seu envolvimento com a desregulação da proliferação e diferenciação das células prostáticas (42,43). Bangsi et al. (12) verificaram que em homens afroamericanos a presença desta variante polimórfica estava fortemente associada com características de diagnóstico agressivo para câncer de próstata. Em contraste, alguns estudos não observaram resultados estatisticamente significativos quanto à presença da variante polimórfica CYP3A4*1B e o câncer de próstata (42,44,45). Nossos dados também não demonstraram uma associação positiva ou negativa entre esta variante e o câncer de próstata (OR= 1,51, 95% IC: 0,97-2,37) (Tabela 3).

Diversos autores descreveram que a deleção em homozigose de *GSTM1* e *GSTT1* pode conferir suscetibilidade aumentada ao câncer (46), incluindo oral, laringe, bexiga, testículo, e próstata (8,3,15,19,47,48,49). O genótipo nulo desses genes leva à ausência da enzima e, conseqüentemente, diminui a detoxificação de inúmeros compostos potencialmente carcinogênicos, como produtos presentes no tabaco, drogas e poluentes ambientais (8). Segundo Aktas et al. (8) e Chang et al. (9), o genótipo nulo das variantes *GSTM1**0 e *GSTT1**0 estão ligados a uma maior suscetibilidade ao câncer de próstata. Contrariamente, Murata et al. (50) não demonstraram associação entre a ausência destes genes e este câncer (*GSTM1*: OR=1,3; IC 95%: 0,82–2,04; *GSTT1*: OR = 1,45; IC 95%: 0,89–2,3). Nossos dados também indicaram ausência de associação para ambos os genes (Tabela 3).

A maioria dos estudos não demonstra associação de variantes alélicas isoladas com o câncer de próstata, pois os genes do biometabolismo não agem isoladamente e a avaliação de múltiplos genes que interagem durante a exposição a carcinógenos pode ser necessária para se compreender este fenômeno. Da mesma forma que na análise dos genótipos isoladamente, quando realizamos a análise combinada entre os genótipos heterozigotos, raros e prevalentes para as variantes das enzimas de Fase I (CYP1A1*2B: A/G e G/G; CYP1B1*2: G/T e T/T; CYP3A4*1B: A/G e G/G), de Fase II (*GSTM1**0 e *GSTT1**0) e de ambas as Fases I e II (*GSTM1* nulo – *GSTM1**0; *GSTT1* nulo – *GSTT1**0; A/G e G/G – CYP1A1*2B; G/T e T/T – CYP1B1*2; A/G e G/G – CYP3A4*1B), não foram observadas associações positivas ou negativas (Tabela 3). Um estudo realizado com 125 brasileiros portadores de carcinoma de próstata demonstrou um risco aumentado para esta doença em uma combinação das variantes A/G e G/G do gene CYP1A1 com os genótipos *GSTM1* e *GSTT1* nulos (19). Nesta amostra avaliada por Lima-Jr et al. (19), 60% dos indivíduos eram fumantes, enquanto em nosso estudo apenas 15,3% dos pacientes apresentavam esse hábito. Este fator de risco pode ter sido o diferencial dos nossos resultados, uma vez que as

porcentagens de pacientes com relação às outras características avaliadas (hábito etilista, idade, parâmetros histopatológicos do tumor) foram similares.

Os genótipos estudados no presente trabalho foram ainda correlacionados com os níveis de PSA e parâmetros histopatológicos (extensão extracapsular, comprometimento de vesículas, invasão perineural, comprometimento linfonodal, bilateralidade, graduação histológica do sistema de Gleason e estadiamento do tumor). Os resultados das análises das variantes candidatas não mostraram diferenças estatisticamente significativas com relação aos parâmetros avaliados, exceto em relação à análise da variante CYP1A*2B1, que apresentou significância estatística para invasão perineural ($p = 0,0382$), ou seja, na presença do genótipo de risco o paciente tem uma maior suscetibilidade à invasão perineural. Observando os dados desta análise, pode-se deduzir que tal significância se deve ao baixo número de indivíduos com invasão perineural e com genótipos heterozigotos e/ou raros ($n=5$) em relação àqueles com genótipos prevalentes ($n=42$). A presença do genótipo nulo da variante *GSTT1**0 isoladamente ou em combinação com o genótipo nulo da variante *GSTM1**0 e a combinação desses genótipos nulos com os genótipos heterozigotos e/ou raros da variante CYP3A4*1B se mostraram estatisticamente significativas em relação ao grau histológico do tumor, indicando que os pacientes com genótipo nulo para este gene (isoladamente ou em algumas combinações genotípicas) tinham uma maior suscetibilidade a tumores com escores de Gleason 5 e 6 ($p = 0,0295$), considerados moderadamente diferenciados (comportamento menos agressivo).

Nossos resultados indicam que as variantes polimórficas estudadas no presente trabalho, por serem expressas no tecido prostático e terem papel chave no biometabolismo de esteróides e carcinógenos, podem contribuir de forma isolada (CYP1B1*2 e CYP3A4*1B) ou combinada (CYP1A1*2B/CYP1B1*2/CYP3A4*1B) para o aumento da suscetibilidade ao câncer de próstata. Deve-se salientar que a presença de associação positiva destas variantes polimórficas com o câncer de próstata em uma população brasileira predominantemente euro-descendente, não tabagista e não etilista sugere que a exposição a outros carcinógenos pode possivelmente ser responsável pelos resultados obtidos. Uma hipótese a ser averiguada é a exposição ocupacional por mais de 10 anos a agrotóxicos observada na presente amostra.

Agradecimentos

Agradecemos ao Hospital do Câncer de Londrina (HCL), UROLIT (PR), CISMEPAR (Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paranapanema), Irmandade Santa

Casa de Londrina, pelo fornecimento das amostras, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e Fundação Araucária pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa produtividade a Cólus, I.M.S.

Referências

- 1 Denis LJ, Gospodarowicz MK, Griffiths K: Câncer de Próstata. In: UICC Manual de Oncologia Clínica (Pollock RE, Doroshov JH, Khayat D, Nakao A, O'Sullivan B). São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo, 8ª ed, 2006, pp584-598
- 2 Instituto Nacional do Câncer Síntese de resultados e comentários [texto na Internet] 2008. [acessado 2008 Ago]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa> 2008.
- 3 Reszka E, Wasowicz W: Genetic polymorphism of N-acetyltransferase and glutathione S-transferase related to neoplasm of genitourinary system. *Neoplasma* 49: 209-216, 2002.
- 4 Aktas D, Guney I, Alikasifoglu M, Yuce K, Tuncbilek E, Ayhan A: CYP1A1 gene polymorphism and risk of epithelial ovarian neoplasm. *Gynecologic Oncology* 86: 124-128, 2002.
- 5 Dong JT: Prevalent Mutations in Prostate Cancer. *Journal of Cellular Biochemistry* 97:433-447, 2006.
- 6 Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K: Genetic polymorphisms in the 5-prime-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *Journal of biochemistry* 110:559-565, 1991.
- 7 Tanaka Y, Sasaki M, Kaneuchi M, Shiina H, Igawa M, Dahiya R: Polymorphisms of the CYP1B1 gene have higher risk for prostate cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 296: 820-6, 2002.
- 8 Aktas D, Hascicek M, Sozen S, Ozen H, Tuncbilek E: CYP1A1 and *GSTM1* polymorphic genotypes in patients with prostate cancer in a Turkish population. *Cancer Gene Cytogenetics* 154: 81-85, 2004.
- 9 Chang BL, Zheng SL, Isaacs SD, Turner A, Hawkins GA, Wiley KE, Bleecker ER, Walsh PC, Meyers DA, Isaacs WB, Xu J: Polymorphisms in the CYP1B1 gene are associated with increased risk of prostate cancer. *British journal of cancer* 89:1524-9, 2003.
- 10 Hanna IH, Dawling S, Roodi N, Guengerich FP, Parl FF: Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. *Cancer Research* 60: 3440-3444, 2000.

- 11 Nelson DR, Kamatasi T, Waxman DJ, Genguerich FP, Estabrook RW, Feyeresen R, Gonzalez FJ, Coon MJ, Gunsalus IC: The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names, and nomenclature. *DNA and Cell Biology* 12: 1–9451, 1993.
- 12 Bangsi D, Zhou JY, Sun Y, Patel NP, Darga LL, Heilbrun LK, Powell IJ, Severson RK, Everson RB: Impact of a genetic variant in CYP3A4 on risk and clinical presentation of prostate cancer among white and African-american men. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 24: 21-27, 2006.
- 13 Amorin LMF, Lotsch PF, Simão TA, Gallo CVM, Pinto LFR: Analysis of CYP1A1 exon 7 polymorphisms by PCR-SSCP in a Brazilian population and description of two novel gene variations. *Mutation Research* 547: 35-40, 2004.
- 14 Egan KM, Cai Q, Shu X, Jin F, Zhu T, Dai Q, Gao Y, Zheng W: Genetic polymorphisms in *GSTM1*, *GSTP1*, and *GSTT1* and the risk for breast cancer: results from the Shanghai breast cancer study and meta-analysis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 13: 197-204, 2004.
- 15 Gattás GJF, Kato M, Soares-Vieira JA, Siraque MS, Kohler P, Gomes L, Rego MAV, Bydlowski SP: Ethnicity and glutathione S-transferase (*GSTM1/GSTT1*) polymorphisms in a Brazilian population. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 37: 451-458, 2004.
- 16 Grando JPS, Kuasne H, Losi-Guembarovski R, Rodrigues IS, Matsuda HM, Fuganti PE, Gregorio EP, Junior FL, Menezes RP, Rodrigues MA, Colus IMS: Association between polymorphisms in the biometabolism genes CYP1A1, *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* in bladder cancer. *Clinical and Experimental Medicine*. DOI 10.1007/s10238-008-0015-z. 2008.
- 17 Engel LS, Taioli E, Pfeiffer R, Garcia-Closas M, Marcus PM, Lan Q, Boffeta P, Vineis P, Autrup H, Bell DA, Branch RA, Brockmoller J, Daly AK, Heckbert SR, Kalina I, Kang D, Katoh T, Lafuente A, Lin HJ, Romkes M, Taylor JA, Rothman N: Pooled analysis and Meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer: a HuGE review. *American Journal Epidemiology* 156: 95-109, 2002.
- 18 Cotton SC, Sharp L, Little J, Brockton N: Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a huge review. *American Journal of Epidemiology* 151: 7-32, 2000.
- 19 Lima-Jr MM, Oliveira MNL, Granja F, Trindade ACG, Castro Santos LEM, Ward LS: Lack of Association of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTO1*, *GSTP1* and CYP1A1 Polymorphisms for Susceptibility and Outcome in Brazilian Prostate Cancer Patients. *Folia Biologica* 54:102-108, 2008.
- 20 Rebbeck TR: Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes *GSTM1* and *GSTT1* in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers. and Prevention* 6: 733-743, 1997.

- 21 Carrano AV, Natarajan AT: International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation Research* 204: 379-406, 1988.
- 22 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF: A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cell. *Nucleic Acids Research* 16: 1215, 1988.
- 23 Drakoulis N, Cascorbi I, Brockmoller J, Gross CR, Roots I: Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'-flanking region. *The Journal of Clinical Investigation*, 72:240-8, 1994.
- 24 Cavalli SA, Hirata MH, Hirara DC: Detection of MboII Polymorphism at the 5' Promoter Region of CYP3A4. *Clinical chemistry* 47:348-351, 2001.
- 25 Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA, Anwar WA, Au WW: A multiplex PCR procedures for polymorphic analysis of *GSTM1* and *GSTT1* genes in population studies. *Cancer Letters* 107: 229-233, 1996.
- 26 American Cancer Society. Síntese de resultados e comentários [texto na Internet] 2008. [acessado 2008 Out]. Disponível em: http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp. 2008.
- 27 Crawford ED: Epidemiology of Prostate Cancer. *Urology* 62: 3-12, 2003.
- 28 Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC: Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 3367-3371, 1990.
- 29 Arruda VR, Grignolli CE, Gonçalves MS, Soares MC, Menezes R, Saad STO, Costa FF: Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) and theta (*GSTT1*) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? *Clinical Genetics* 54: 210-214, 1998.
- 30 Sturgis RC, Wei Q, Spitz MR: Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Seminars in Oncology* 31(6): 726-33, 2004.
- 31 Nebert DW, Dalton TP: The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer* 6(12): 947-60, 2006.
- 32 Berndt SI, Chatterjee N, Huang WY, Chanock SJ, Welch R, Crawford ED, Hayes RB: Variant in sex hormone-binding globulin gene and the risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 16: 165-168, 2007.

- 33 Roos PH, Belik R, Follmann W, Degen GH, Knopf HJ, Bolt HM, Golka K: Expression of cytochrome P450 enzymes CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1 and CYP4B1 in cultured transitional cells from specimens of the human urinary tract and from urinary sediments. *Archives of Toxicology* 80: 45-52, 2006.
- 34 Hefler LA, Tempfer CB, Grimm C. Oestrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. *Cancer* 101: 264-269, 2004.
- 35 Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K: Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Research* 51: 5177-5180, 1995.
- 36 Acevedo C, Opazo JL, Huidobro C. Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and *GSTM1* in relation to prostate cancer in Chilean people. *Prostate* 57: 111-117, 2003.
- 37 Quiñones LA, Irrázabal CE, Rojas CR, Orellana CE, Acevedo C, Huidobro C, Varela NE, Cáceres DD: Joint effect among p53 CYP1A1, *GSTM1* polymorphism combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study. *Asian Journal Andrology* 8: 349-355, 2006.
- 38 Silig Y, Pinarbasi H, Gunes S, Ayan S, Bagci H, Ce-tinkaya O: Polymorphisms of CYP1A1, *GSTM1*, *GSTT1*, and prostate cancer risk in Turkish population. *Cancer investigation* 24: 41-45, 2006.
- 39 Figer, A., Friedman, T., Manguoglu, A.E., Flex, D., Vazina, A., Novikov, I., Shtriker, A., Sidi, A.A., Tichler, T., Sapir, E.E., Baniel, J., and Friedman, E. Analysis of polymorphic patterns in candidate genes in Israeli patients with prostate cancer. *The Israel Medical Association journal* 5: 741-745, 2003.
- 40 Simon DS, Gregory JH, Andrew AR, Kenneth MA, Xinxin D, Laurence SK: CYP1B1 expression in human lung. *Drug Metabolism and disposition* 29:916-922, 2001.
- 41 Sasaki M, Tanaka Y, Kaneuchi M, Sakuragi N, Dahiya R: CYP1B1 Gene Polymorphisms Have Higher Risk for Endometrial Cancer, and Positive Correlations with Estrogen Receptor α and Estrogen Receptor β Expressions. *Cancer Research* 63, 3913-3918, 2003.
- 42 Tayeb MT, Clark C, Haites NE, Sharp L, Murray GI, Mcleod HL: CYP3A4 and VDR gene polymorphism and the risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. *Brisith Journal of Cancer* 88: 928-932, 2003.
- 43 Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stocker P, Miller VP, Zheng W, Raunio H, Crespi CL, Gonzalez FJ: CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clinical pharmacology and therapeutics* 67(1):48-56, 2000.

- 44 Sarma AV, Dunn RL, Lange LA, Ray A, Wang Y, Lange EM, Cooney KA: Genetic polymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBP-3 and prostate cancer risk in African-American men: the Flint Men's Health Study. *The Prostate* 68(3):296-305, 2008.
- 45 Nogal A, Coelho A, Catarino R, Morais A, Lobo F, Medeiros R: The CYP3A4 *1B polymorphism and prostate cancer susceptibility in a Portuguese population. *Cancer Genetics Cytogenetics* 177(2):149-52, 2007.
- 46 Cascorbi I: Genetic basis of toxic reactions to drugs and chemicals. *Toxicology Letters* 162: 16-28, 2006.
- 47 Gajecka M, Rydzanicz M, Jaskula-Sztul R, Kujawski R, Szyfter W, Szyfter K: CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, NAT2, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma. *Mutation Research* 574: 29-34, 2005.
- 48 Drummond SN, Marco L, Noronha JCN, Gomez RS: *GSTM1* polymorphism and oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* 40: 52–55, 2004.
- 49 Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GC, Wolf CR. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 18(4):641-4, 1997.
- 50 Murata M, Shiraishi T, Fukutome K, Watanabe M, Nagao M, Kubota Y, Ito H, Kawamura J, Yatani R: Cytochrome P4501A1 and Glutathione S-transferase M1 Genotypes as risk factors for prostate cancer in Japan. *Japanese Journal of clinical Oncology* 28:657-660, 1998.

CONCLUSOES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, concluímos que:

- apesar das variantes alelicas CYP1A1*2B, CYP1B1*2, CYP3A4*1B, *GSTM1**0 e *GSTT1**0, serem expressas no tecido prostático e terem papel chave no biometabolismo de esteroides e carcinogênicos, parecem não contribuir de forma isolada para o aumento da suscetibilidade ao câncer de próstata;

- foi observada uma associação positiva das variantes CYP1B1*2 e CYP3A4*1B com o câncer de próstata, estando os resultados no limite da significância;

- as combinações genotípicas não se mostraram associadas ao desenvolvimento do carcinoma de próstata quando foram consideradas combinações das variantes de fase I e de fase II (CYP1A1*2B e *GSTM1**0 e/ou *GSTT1**0; CYP1B1*2 e *GSTM1**0 e/ou *GSTT1**0; CYP3A4*1B e *GSTM1**0 e/ou *GSTT1**0) e apenas de fase II (*GSTM1**0 e *GSTT1**0);

- as combinações das variantes CYP1A1*2B, CYP1B1*2 e CYP3A4*1B (OR=2,55, IC 95%=1,08-5,99) mostrou associação positiva significativa;

- não há indicações de que estas variantes alelicas influenciem na progressão para estágios mais avançados do processo tumoral, por não se mostrarem associadas a parâmetros histopatológicos ligados a progressão da doença, tais como graus 7 a 10, estadiamento T4, e invasão a outros órgãos ou estruturas adjacentes;

- a presença do genótipo de risco do gene CYP1A1 apresentou significância estatística para invasão perineural, ou seja, na presença do genótipo de risco o paciente tem uma maior suscetibilidade a invasão perineural deduzindo-se que tal significância se deve ao baixo número de indivíduos com invasão perineural e com genótipos considerados de risco em relação aqueles com genótipos considerados de não risco;

- a presença da variante *GSTT1**O isoladamente (p=0,0295) e em combinação com a variante *GSTM1**O (p=0,0251) e a combinação dessas duas variantes de fase II com a variante CYP3A4*1B (p=0,0291), mostraram significância estatisticamente significativa para grau histológico, uma vez que aumenta a suscetibilidade a tumores com graus de Gleason 5 e 6 (considerados moderadamente diferenciados - (comportamento menos agressivo) e grau 7 (considerados diferenciados). Tal significância se deve também ao baixo número de indivíduos heterozíotos e/ou raros com estes graus na amostra;

- a exposicao ocupacional por 10 anos ou mais a agrototoxicos destacou-se entre os fatores de risco para o desenvolvimento do cancer de prostata na presente amostra.

REFERENCIAS

- ABDEL-RAHMAN, S.Z.; EL-ZEIN, R.A.; ANWAR, W.A.; AU, W.W. A multiplex PCR procedures for polymorphic analysis of *GSTM1* and *GSTT1* genes in population studies. **Cancer Letters** 107: 229-233, (1996).
- ACEVEDO, C.; OPAZO, J.L.; HUIDOBRO, C. Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and *GSTM1* in relation to prostate cancer in Chilean people. **Prostate**, 57: 111-117, (2003).
- AGALLIU, I.; LANGEBERG, W.J.; LAMPE, J.W.; SALINAS, C.A.; STANFORD, J.L. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and prostate cancer risk in middle-aged men. **Prostate**, 66:146-156. (2006).
- AKAZAKI, K.; STEMMERMAN, GN. Comparative study of latent carcinoma of the prostate among Japanese in Japan and Hawaii. **Journal National Cancer Institute**, 50(5):1137-44, (1973).
- AKTAS, D.; GUNAY, I.; ALIKASIFOGLU, M.; YUCE, K.; TUNCBILEK, E.; AYHAN, A. CYP1A1 gene polymorphism and risk of epithelial ovarian neoplasm. **Gynecologic Oncology**, 86: 124-128, (2002).
- AKTAS D.; HASCICEK M.; SOZEN S, OZEN H, TUNCBILEK E. CYP1A1 and *GSTM1* polymorphic genotypes in patients with prostate cancer in a Turkish population. **Cancer Gene Cytogenetics**, 154: 81-85, (2004).
- ALAVANJA, M. C.; SAMANIC, C.; DOSEMECI, M.; LUBIN, J.; TARONE, R.; LYNCH, C.F.; KNOTT, C.; THOMAS, K.; HOPPIN, J.A.; BARKER, J.; COBLE, J.; SANDLER, D.P.; BLAIR, A. Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, 157: 800-814, (2003).
- ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Tecidos e Câncer. In: **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª ed., Artmed, pp 697-740, (2006).
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Síntese de resultados e comentários** [texto na Internet] 2008. [acessado 2008 Out]. Disponível em: http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp. 2008
- AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER / INTERNATIONAL UNION AGAINST CANCER (UICC). TNM, **Classification of Malignant Tumours**, 6th ed. New York, Wiley-Lis. pp.184-187, (2002).

AMORIN, L.M.F.; LOTSCH, P.F.; SIMÃO, T.A.; GALLO, C.V.M.; PINTO, L.F.R. Analysis of CYP1A1 exon 7 polymorphisms by PCR-SSCP in a Brazilian population and description of two novel gene variations. **Mutation Research**, 547: 35-40, (2004).

ARRUDA, V. R.; GRIGNOLLI, C. E.; GONÇALVES, M. S.; SOARES, M. C.; MENEZES, R.; SAAD, S. T. O.; COSTA, F. F. Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) and theta (*GSTT1*) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? **Clinical Genetics**, 54: 210-214, (1998).

BALL, S.E.; SCATINA J.; KAO J.; FERRON, G.M.; FRUNCILLO R.; MAYER P.; WEINRYB I.; GUIDA M.; HOPKINS P.J.; WARNER N.; HALL J. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 59 promotor region of CYP3A4. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, 66:288–94, (1999).

BANGSI, D.; ZHOU, J.Y.; SUN, Y.; PATEL, N.P.; DARGA, L.L.; HEILBRUN, L.K.; POWELL, I.J.; SEVERSON, R.K.; EVERSON, R.B. Impact of a genetic variant in CYP3A4 on risk and clinical presentation of prostate cancer among white and African-american men. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, 24: 21-27, (2006).

BAROUKI, R. & MOREL, Y. Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. **Biochemical Pharmacology**, 61:511-516, (2001).

BARTSCH, H. Studies on biomarkers in cancer etiology and prevention: a summary and challenge of 20 years of interdisciplinary research. **Mutation Research**, 462: 255-279, (2000).

BASSIL, K. L.; VAKIL, C.; SANBORN, M.; COLE, D.C.; KAUR, J.S.; KERR, K.J. Cancer health effects of pesticides Systematic review. **Canadian Family Physician**, 53: 1705-1711, (2007).

BEJJANI, B.A.; LEWIS, R.A.; TOMEY, K.F.; ANDERSON, K.L.; DUEKER, D.K.; JABAK, M.; ASTLE, W.F.; OTTERUD, B.; LEPPERT, M.; AND LUPSKI, J.R. Mutations in CYP1B1, the gene for cytochrome P4501B1, are the predominant cause of primary congenital glaucoma in Saudi Arabia. **American Journal Human Genetics**, 62:325-333, (1998).

BERNDT, S.I.; CHATTERJEE, N.; HUANG, W.Y.; CHANOCK, S.J.; WELCH, R.; CRAWFORD, E.D.; HAYES, R.B. Variant in sex hormone-binding globulin gene and the risk of prostate cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, 16:165-168, (2007).

BEUTEN, J.; GELFOND, J.A.; BYRNE, J.J.; BALIC, I.; CRANDALL, A.C.; JOHNSON-PAIS, T.L.; THOMPSON, I.M.; PRICE, D.K.; LEACH, R.J. CYP1B1 variants are associated with prostate cancer in non-Hispanic and Hispanic Caucasians. **Carcinogenesis**, 29:1751-7, (2008).

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. **Câncer da próstata** [texto na Internet] 2002. (acessado em Dez de 2008). Disponível em: www.bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/manual_prostata.pdf.

BILL-AXELSON A.; HOLMBERG L.; FILÉN F.; RUUTU M.; GARMO H.; BUSCH C.; NORDLING S.; HÄGGMAN M.; ANDERSSON SO.; BRATELL S.; SPÅNGBERG A.; PALMGREN J.; ADAMI HO.; JOHANSSON JE. Radical prostatectomy versus watchful waiting in localized prostate cancer: the Scandinavian prostate cancer group-4 randomized trial. **Journal National Cancer Institute**, 100:1144-54, (2008).

BLACK, S.D.; COON, M.J. Cytochrome P450: structure and function. In: **Advances in Enzymology & Related Areas of Molecular Biology**. P Ortiz de Montellano, Ed. Plenum, New York, pp 161-216, (1986).

BLACK, S.M.; WOLF, C.R. The role of glutathione-dependent enzymes in drug resistance. **Pharmacology & Therapeutics**, 51:139-154, (1991).

BOARD, P.; COGGAN, M.; JOHNSTON, P.; ROSS, V.; SUZUKI, T.; WEBB, G. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: a complex of gene families. **Pharmacology & therapeutics**, 48: 357-369, (1990).

BOERS, D.; ZEEGERS, M.P.; SWAEN, G.M.; KANT, I.; VAN, D.; BRANDT, P.A. The influence of occupational exposure to pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, diesel exhaust, metal dust, metal fumes, and mineral oil on prostate cancer: a prospective cohort study. **Occupational and Environmental Medicine**, 62:531-7, (2005).

BOSTWICK, D.G.; QIAN, J.; SCHLESINGER, M.D. Contemporary pathology of prostate cancer. **Urology Clinical North American**, 30:181-297, (2003).

BRASILEIRO, G.F. Câncer de Próstata. In: **Bogliolo Patologia**. 7 ed, Guanabara Koogan, pp590601, (2006).

BRESLOW, R.A.; WEED, D.L. Review of epidemiologic studies of alcohol and prostate cancer: 1971-1996. **Nutrition and Cancer**, 30:1-13, 1998.

BROOKS, R.A.; GOODERHAM, N.J.; EDWARDS, R.J.; BOOBIS, A.R.; WINTON, D.J. The mutagenicity of benzo[a]pyrene in mouse small intestine. **Carcinogenesis**, 20: 109-114, (1999).

CANTRELL, B.B.; DEKLERK, D.P.; EGGLESTON, J.C.; BOITNOTT, J.K.; WALSH, P.C. Pathological factors that influence prognosis in stage A prostatic cancer: the influence of extent versus grade. **Journal Urology**, 125:516-520, (1981).

CARRANO, A.V.; NATARAJAN, A.T. International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. **Mutation Research**, 204: 379-406, (1988).

CARTER, B.S.; BEATY, T.H.; STEINBERG, G.D.; CHILDS, B.; WALSH, P.C. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, 89: 3367-3371, (1990).

CASCORBI, I. Genetic basis of toxic reactions to drugs and chemicals. **Toxicology Letters**, 162: 16-28, (2006).

CAVALLI, S.A.; HIRATA, M.H.; HIRARA, D.C. Detection of MboII Polymorphism at the 5' Promoter Region of CYP3A4. **Clinical chemistry**, 47:348-351, (2001).

CHAN, J.M.; GANN, P.H. and GIOVANNUCI, E.L. Role of diet in prostate cancer development and progression. **Journal of Clinical Oncology**, 23:8152-60, (2005).

CHAN, J.M.; STAMPFER, M.J.; MA, J.; GANN, P.; GAZIANO, J.M.; POLLAK, M.; GIOVANNUCI, E. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer. **Journal National Cancer Institute**, 94:1099-106, (2002).

CHANG, B.L.; ZHENG, S.L.; ISAACS, S.D.; TURNER, A.; HAWKINS, G.A.; WILEY, K.E.; BLEECKER, E.R.; WALSH, P.C.; MEYERS, D.A.; ISAACS, W.B.; XU, J. Polymorphisms in the CYP1B1 gene are associated with increased risk of prostate cancer. **British journal of cancer**, 89:1524-9, (2003).

COHEN, J.H.; KRISTAL, A.R.; and STANFORD, J.L. Fruit and vegetable intake and prostate cancer risk. **Journal of the National Cancer Institute**, 92: 61-8, (2000).

CONFORTI-FROES, N.D.T.; EL-ZEIN, R.; ABDEL-RAHMAN, S.Z.; ZWISCHENBERGER, J.B.; AU, W.W. Predisposing genes and increased chromosome aberrations in lung cancer cigarette smokers. **Mutation Research**, 379: 53-59, (1997).

CONFORTI-FROES, N.D.T.; EL-ZEIN, R.; AU, W. Genetic polymorphism and their contribution to cancer susceptibility. **Cadernos de Saúde Pública**, 14 : 7-13, (1998).

CONFORTI-FROES, N.D.T.; LOURO, I.D.; LIMA, J.O. Câncer de Próstata. In: **Genética Molecular do Câncer**. Louro, I.D.; Llerena, Jr J.C.; Melo M.S.V.; Ashton-Prolo, P. e ConforttiFroes, N.D.T. (eds) MSG Produção Editorial, pp 223-231, (2002).

COTTON, S. C.; SHARP, L.; LITTLE, J.; BROCKTON, N. Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a huge review. **American Journal of Epidemiology**, 151: 7-32, (2000).

COUGHLIN, S.S; HALL, I.J. A review of genetic polymorphisms and prostate cancer risk. **Annals Epidemiology**, 12:182-96, (2002).

CRAWFORD, E.D. Epidemiology of Prostate Cancer. **Urology**, 62: 3-12, (2003).

CULPI, L.; SALZANO, F. M. Migration, genetic markers and race admixture in Curitiba, Brazil. **Journal of Biosocial Science**, 16:127-135, (1984).

DALY, A.K.; CHOLERTON, S.; GREGORY, W.; IDLE, J.R. Metabolic polymorphisms. **Pharmacology & therapeutics**, 57:129-60, (1993).

D'ARCE LPG, CÓLUS IMS. Cytogenetic and molecular monitoring of brazilian farmers exposed to pesticides. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**, 20:161-170, (2000).

DELBANCO, E.H.; BOLT, H.M.; HUBER, W.W.; BEKEN, S.; GELLER, F.; PHILIPPOUS, S.; BRANDS, F.H.; BRUNNING, T.; THEIR, R. Glutathione transferase activities in renal carcinomas and adjacent normal renal tissues: factors influencing renal carcinogenesis induced by xenobiotics. **Archives of toxicology**, 74: 688-694, (2001).

DONG, J.T. Prevalent Mutations in Prostate Cancer. **Journal of Cellular Biochemistry**, 97:433-447, (2006).

DRAKOULIS, N.; CASCORBI, I.; BROCKMOLLER, J.; GROSS, C.R.; ROOTS, I. Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'-flanking region. **The Journal of Clinical Investigation**, 72:240-8, (1994).

DRUMMOND, S.N.; MARCO, L.; NORONHA, J.C.N.; GOMEZ, R.S. *GSTM1* polymorphism and oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, 40: 52–55, (2004).

EGAN, K. M., CAI, Q.; SHU, X.; JIN, F.; ZHU, T.; DAI, Q.; GAO, Y.; ZHENG, W. Genetic polymorphisms in *GSTM1*, *GSTP1*, and *GSTT1* and the risk for breast cancer: results from the Shanghai breast cancer study and meta-analysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 13: 197-204, (2004).

EL-ZEIN, R.; CONFORTI-FROES, N.D.T.; AU, W.W. Interactions between genetic predisposition and environmental toxicants for development of lung cancer. **Environmental Molecular Mutagenesis**, 30: 196-204, (1997b).

ENGEL, L. S.; TAIOLI, E.; PFEIFFER, R.; GARCIA-CLOSAS, M.; MARCUS, P. M.; LAN, Q.; BOFFETTA, P.; VINEIS, P.; AUTRUP, H.; BELL, D. A.; BRANCH, R. A.; BROCKMOLLER, J.; DALY, A. K.; HECKBERT, S. R.; KALINA, I.; KANG, D.; KATOH, T.; LAFUENTE, A.; LIN, H. J.; ROMKES, M.; TAYLOR, J. A.; ROTHMAN, N. Pooled analysis and meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer: a HuGE review. **American Journal Epidemiology**, 156: 95-109, (2002).

EVANS, D.A.P. Arylhydrocarbon hydroxylase (cytochrome P450 1A1 and 1A2). In: **Genetic factors in drug therapy**. Editora Cambridge University Press, p.19-34, (1993).

FELIX, C.A.; WALKER, A.H.; LANGE, B.J.; WILLIAMS, T.M.; WINICK, N.J.; CHEUNG, N.K.; LOVETT, B.D.; NOWELL, P.C.; BLAIR, I.A.; REBBECK, T.R. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 95:13176-81, (1998).

FERREIRA, C.G.; E ROCHA, J.C. Suscetibilidade Genética ao Câncer. In: **Oncologia Molecular**. Atheneu, pp 295-218, (2004).

FERRINI, R.L.; BARRETT-CONNOR, E. Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community-dwelling men. **American Journal of Epidemiology**, 147(8):750-4 (1998).

FIGER, A.; FRIEDMAN, T.; MANGUOGLU, A.E.; FLEX, D.; VAZINA, A.; NOVIKOV, I.; SHTRIEKER, A.; SIDI, A.A.; TICHLER, T.; SAPIR, E.E.; BANIEL, J.; AND FRIEDMAN, E. Analysis of polymorphic patterns in candidate genes in Israeli patients with prostate cancer. **The Israel Medical Association Journal**, 5: 741–745, (2003).

FUTREAL PA., KASPRZYK A., BIRNEY E., MULLIKIN JC., WOOSTER R., STRATTON MR. Cancer and genomics. **Nature**, 409: 850-2; (2001).

GAJECKA, M.; RYDZANICZ, M.; JASKULA-SZTUL, R.; KUJAWSKI, R.; SZYFTER, W.; SZYFTER, K. CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, NAT2, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma. **Mutation Research**, 574: 29-34, (2005).

GAO, J.P.; HUANG, Y.D.; YANG, G.Z.; YANG, Y.Q. Relationship between genetic polymorphisms of metabolizing enzymes and prostate cancer. **National Journal of Andrology**, 9:32-5, (2003).

GAO, Y.; ZHANG, L.R.; FU, Q. CYP3A4*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. **European Journal of Clinical Pharmacology**, 64:877–882, (2008).

GATTÁS, G. J. F.; KATO, M.; SOARES-VIEIRA, J. A.; SIRAQUE, M. S.; KOHLER, P.; GOMES, L.; REGO, M. A. V.; BYDŁOWSKI, S. P. Ethnicity and glutathione S-transferase (*GSTM1/GSTT1*) polymorphisms in a **Brazilian population**. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 37: 451-458, (2004).

GEISLER, S.A.; OLSHAN, A. F. *GSTM1*, *GSTT1* and the risk os squamous cell carcinoma of the head and neck. **American Journal of Epidemiology**, 154: 95-105, (2001).

GIOVANNUCCI, E.; RIMM, E.B.; ASCHERIO, A.; COLDITZ, G.A.; SPIEGELMAN, D.; STAMPFER, M.J.; AND WILLETT, W.C. Smoking and risk of total and fatal prostate cancer in United States health professionals. **Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention**, 8:277-82, (1998).

GLEASON, D.F. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. **Human Pathology**, 23:273279, 1990.

GOODWIN, B.; HODGSON, E.; LIDDLE, C. The orphan human pregnane X receptor mediates the transcriptional activation of CYP3A4 by rifampicin through a distal enhancer module. **Molecular Pharmacology**, 56(6):1329-39, (1999).

GOMES, R.; REBELLO, L.E.F.S.; ARAÚJO, F.C.; NASCIMENTO, E.F. A prevenção do câncer de próstata: uma revisão da literatura. **Ciência e Saúde Coletiva**, 12: 235-246, (2006).

GOMES, R. Tumor de Próstata: Adenocarcinoma. In: **Oncologia Básica**. Livraria e Editora Revinter Ltda, pp 239-244, (1997).

GRANDO, J.P.S.; KUASNE, H.; LOSI-GUEMBAROVSKI, R.; RODRIGUES, I.S.; MATSUDA, H.M.; FUGANTI, P.E.; GREGÓRIO, E.P.; JUNIOR, F.L.; MENEZES, R.P.; RODRIGUES, M.A., COLUS, I.M.S. Association between polymorphisms in the biometabolism genes CYP1A1, *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* in bladder cancer. **Clinical and Experimental Medicine**, DOI 10.1007/s10238-008-0015-z, (2008).

GRONBERG, H. Prostate Cancer Epidemiology. **The Lancet**, 361:859-64 (2003).

GUENGERICH, F.P. Metabolism of chemical carcinogens. **Carcinogenesis**, 21: 345-351, (2000).

HAAS, G. P.; AND SAKR, W. A. Epidemiology of prostate cancer. **Cancer Journal Clinicians**, 47:273-287, (1997).

HAND, P.A.; INSKIP, A.; GILFORD, J.; ALLDERSEA, J.; ELEXPURU-CAMIRUAGA, J.; HAYES, J.D.; JONES, P.W.; STRANGE, R.C.; FRYER, A.A. Allelism at the glutathione S-transferase *GSTM3* locus: interactions with *GSTM1* and *GSTT1* as risk factors for astrocytoma. **Carcinogenesis**, 17:1919-22, (1996).

HANNA, I.H.; DAWLING, S.; ROODI, N.; GUENGERICH, F.P.; PARL, F.F. Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. **Cancer Research**, 60: 3440– 3444, (2000).

HARRIES, L.W.; STUBBINS, M.J.; FORMAN, D.; HOWARD, G.C.; WOLF, C.R. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. **Carcinogenesis**, 18:641-4, (1997).

HATAGIMA, A.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N.; SILVA, F.P.; CABELLO, P.H. Glutathione S-transferase M1 (*GSTM-1*) polymorphism in two Brazilian populations. **Genetics and Molecular Biology**, 23: 709-713, (2000).

HAYASHI, S.; WATANABE, J.; KAWAJIRI, K. Genetic polymorphisms in the 5-prime-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. **Journal of Biochemistry**, 110:559-565, (1991).

HAYES, J.D.; PULFORD, D.J. The glutathione S-transferase supergene family regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. **Critical Reviews in Biochemistry Molecular Biology**, 30: 445-600, (1995).

HEFLER, L.A.; TEMPFER, C.B.; GRIMM, C. Oestrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. **Cancer**, 101: 264-269, (2004).

HILDEBRAND, C. E.; GONZALEZ, F. J.; MCBRIDE, O. W.; NEBERT, D. W. Assignment of the human 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-inducible cytochrome P1-450 gene to chromosome 15. **Nucleic Acids Research**, 13: 2009-2016, (1985).

HIRVONEN, A.; HUSGAFVEL-PURSIAINEN, K.; ANTTILA, S.; KARJALAINEN, A.; VAINIO, H. The human CYP2E1 gene and lung cancer: DraI and RsaI restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. **Carcinogenesis**, 14:85-8, (1993).

HU, J.; LA VECCHIA, C.; DESMEULES, M.; NEGRI, E.; MERY, L. Meat and fish consumption and cancer in Canada. **Nutrition Cancer**, 60:313-24, (2008).

INGELMAN-SUNDBERG, M. Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of the CYP family of enzymes. **Mutation Research**, 482:11-19, (2001).

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER **Síntese de resultados e comentários [texto na Internet] 2008**. [acessado 2008 Ago]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa2008>.

ISAACS, J.T. Prostate structure and function in relation to etiology of prostatic cancer. **Prostate**, 4: 351-66, (1983).

KAISARY, A.V.; MURPHY, G.P.; DENIS, L.; GRIFFTHS, K. Textobook of **Prostate Cancer Pathology, Diagnosis and Treatment**. Martin Dunitz, Londres, pp 367, (1999).
KANETSKY, P.A.; HOLMES, R.; WALKER, A.; NAJARIAN, D.; SWOYER, J.; GUERRY, D.; HALPERN, A.; REBBECK, T.R. Interaction of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and malignant melanoma. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 10:509-13, (2001).

KAWAJIRI, K. CYP1A1. **IARC Scientific Publications**, 148: 159-172, (1999).

KEY, T.J.; SILCOCKS, P.B.; DAVEY, G.K.; et al. A case-control study of diet and prostate cancer. **British Journal of Cancer**, 76:678-687 (1997).

KIETHHUBTHEW, S.; SRIPLUNG, H.; AU, W.W. Genetic and environmental interactions on oral cancer in Southern Thailand. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 37:111-6, (2001).

KLEIN, E.A Radiation Therapy versus Radical Prostatectomy in PSA Era: A Urologist' s View. **Seminars in Oncology** , 8: 87-94, (1998).

KNUDSON, A.G. Hereditary cancer, oncogenes and anti-oncogenes. **Cancer Research**, 45:14371443, 1985.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J.; MEYER, A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, 18:435-45 (2002).

KOKENY, G.P. **Correlação dos achados anatômicos patológicos com ultrassonografia transretal e níveis de PSA no carcinoma de próstata**. Tese de Doutorado, USP, 109p. <http://www.periódicos.capes.gov.br/relatorioteses>, (1998).

LADERO, J.M.; GARCÍA-AGÚNDEZ, J.A.; BENÍTEZ, J. Enzymatic polymorphisms and lung cancer. **Medicina Clínica**, 111: 465-470, (1998).

LANDI, S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: A review. **Mutation Research**, 463: 247-283, (2000).

LEE KM.; KANG D.; CLAPPER ML.; INGELMAN-SUNDBERG M.; ONO-KIHARA M.; KIYOHARA C.; MIN S.; LAN Q.; LE MARCHAND L.; LIN P.; LUNG ML.; PINARBASI H.; PISANI P.; SRIVATANAKUL P.; SEOW A.; SUGIMURA H.; TOKUDOME S.; YOKOTA J.; TAIOLI E. CYP1A1, *GSTM1*, and *GSTT1* polymorphisms, smoking, and lung cancer risk in a pooled analysis among Asian populations. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, 17:1120-6, (2008).

LEVI F, LA VECCHIA C. Tobacco smoking and prostate cancer: time for an appraisal. **Annals of Oncology**, 12:733-8 (2001).

LIMA-JR, M.M.; OLIVEIRA, M.N.L.; GRANJA, F.; TRINDADE, A.C.G.; CASTRO SANTOS, L.E.M.; WARD, L.S. Lack of Association of *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTO1*, *GSTP1* and *CYP1A1* Polymorphisms for Susceptibility and Outcome in Brazilian Prostate Cancer Patients. **Folia Biologica**, 54,102-108, (2008).

LOSI-GUEMBAROVSKI, R.; D'ARCE, L.P.G.; CÓLUS, I.M.S. Glutathione S-transferase Mu (*GSTM1*) null genotype in relation to gender, age and smoking status in a healthy Brazilian population. **Genetics and Molecular Biological**, 25: 357-360, (2002).

LOURO, I. D.; LLERENA JR., J. C.; VIEIRA DE MELO, M. S.; ASHTON-PROLLA, P.; CONFORTI-FROES, N. Epidemiologia Molecular-Xenobióticos e Suacetibilidade Genética na Etiologia do Câncer. In: **Genética molecular do câncer**. 2 ed., São Paulo, MSG Produção Editorial, (2002).

MATTHIAS, C.; JAHNKE, V.; JONES, P.W.; HOBAN, P.R.; ALLDERSEA, J.E.; WORRALL, S.F.; FRYER, A.A.; STRANGE, R.C. Cyclin D1, glutathione S-transferase, and

cytochrome P450 genotypes and outcome in patients with upper aerodigestive tract cancers: assessment of the importance of individual genes using multivariate analysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 8:815-23, (1999).

MEYER, A.; CHRISMAN, J.; MOREIRA, J.C.; KOIFMAN, S. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental Research**, 93:264-71 (2003).

MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cell. **Nucleic Acids Research**, 16: 1215, (1988).

MILLIKAN, R.; PITTMAN, G.; TSE, C.; SAVITZ, D.A.; NEWMAN, B.; BELL, D. Glutathione S-transferases M1, T1, and P1 and breast cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, 9: 567-573, (2000).

MITTAL, R.D.; SRIVASTAVA, D.S.; MANDHANI, A.; KUMAR, A.; MITTAL, B. Polymorphism of *GSTM1* and *GSTT1* genes in prostate cancer: a study from North India. **Indian Journal Cancer**, 41:115-9, (2004).

MORITZ, R.; SROUGI, M.; ORTIZ, V.; LEITE, K.R.M.; NESRALLAH, L.; DALL'OGGIO, M.; SANT'ANNA, A.C. Desdiferenciação do câncer da próstata após terapia antiandrogênica. **Revista Associação Médica Brasileira**, 51: 117-20 (2005).

MOSTOFI, F.K.; DAVIS JR, C.J.; SESTERHENN, I.A. Pathology of carcinoma of the prostate. **Cancer**, 70:235-253, (1992). MULTIGNER, L.; NDONG, J.R.; OLIVA, A. BLANCHET, P. Environmental pollutants and prostate cancer: Epidemiological data. **Gynécologie Obstétrique Fertilité**, 36:848-56, (2008).

MURATA, M.; SHIRAISHI, T.; FUKUTOME, K.; WATANABE, M.; NAGAO, M.; KUBOTA, Y.; ITO, H.; KAWAMURA, J.; YATANI, R. Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase M1 genotypes as risk factors for prostate cancer in Japan. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, 28:657-60, (1998).

MURATA, M.; WATANABE, M.; YAMANAKA, M.; KUBOTA, Y.; ITO, H.; NAGAO, M.; KATO, T.; KAMATAKI, T.; KAWAMURA, J.; YATANI, R.; SHIRAISHI, T. Genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, CYP2E1, glutathione S-transferase (GST) M1 and *GSTT1* and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. **Cancer Letters**, 165:171-7, (2001).

NAKACHI, K.; IMAI, K.; HAYASHI, S.; WATANABE, J.; KAWAJIRI, K. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. **Cancer Research**, 51: 5177-5180, (1995).

NAKAZATO, H.; SUZUKI, K.; MATSUI, H.; KOIKE, H.; OKUGI, H.; OHTAKE, N.; TAKEI, T.; NAKATA, S.; HASUMI, M.; ITO, K.; KUROKAWA, K.; YAMANAKA, H. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (*GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1*) with familial prostate cancer risk in a Japanese population. **Anticancer Research**, 23:2897-902, (2003).

NAM, R.K.; ZHANG, W.W.; TRACHTENBERG, J.; JEWETT, M.A.; EMAMI, M.; VESPRINI, D.; CHU, W.; HO, M.; SWEET, J.; EVANS, A.; TOI, A.; POLLAK, M.; NAROD, S.A. Comprehensive assessment of candidate genes and serological markers for the detection of prostate cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 12:1429-37, (2003).

NEBERT, D.W.; DALTON, T.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. **Nature Reviews Cancer**, 6: 947-60, (2006).

NELSON, D. R.; KAMATASI, T.; WAXMAN, D. J.; GENGUERICH, F. P.; ESTABROOK, R. W.; FEYERESSEN, R.; GONZALEZ, F. J.; COON, M. J.; GUNSALUS, I. C. The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names, and nomenclature. **DNA and Cell Biology**, 12: 1 – 9451, (1993).

NGO, T.H.; BARNARD, R.J.; COHEN, P.; FREEDLAND, S.; TRAN, C.; DEGREGORIO, F.; ELSHIMALI, Y.I.; HEBER, D.; ARONSON, W.J. Effect of isocaloric low-fat diet on human LAPC-4 prostate cancer xenografts in severe combined immunodeficient mice and the insulin-like growth factor axis. **Clinical Cancer Research**, 9:2734-43 (2003).

NOGAL, A.; COELHO, A.; CATARINO, R.; MORAIS, A.; LOBO, F.; MEDEIROS, R. The CYP3A4 *1B polymorphism and prostate cancer susceptibility in a Portuguese population. **Cancer Genetics Cytogenetics**, 177:149-52, (2007).

NTAIS, C.; POLYCARPOU, A.; IONNIDIS, J.P. Association of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers Prevention**, 14:176-181, (2005).

OBLIGACION, R.; MURRIA, M.; RAMZAN, I. Drug metabolising enzymes transporters: Expression in the Human Prostate and Roles in Prostate Drug Disposition. **Journal of Andrology**, 27:138-50, (2005).

OGA, S. Bases da Toxicologia. In: **Fundamentos de Toxicologia**. 2ª edição. Atheneu Editora, pp16-17, (2003).

OMS: ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Cancer: WHO cancer control programme. 2006**. Disponível em <http://www.who.int/cancer/en/>. Acesso em Dez 2008.

OMS: ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Cancer: WHO cancer control programme. 2008**. Disponível em <http://www.who.int/cancer/en/>. Acesso em Dez 2008.

OGG, M.S.; WILLIAMS, J.M.; TARBIT, M.; GOLDFARB, P.S.; GRAY, T.J.; GIBSON, G.G. A reporter gene assay to assess the molecular mechanisms of xenobiotic-dependent induction of the human CYP3A4 gene in vitro. **Xenobiotica**, 29:269-79, (1999).

PARKINSON, A. Biotransformation of xenobiotics. In: **Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**, (C. D., KLAASSEN, org), pp. 113 – 186, 9th edition, New York, McGraw_Hill, (2001).

PARKIN, D.M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. Global cancer statistics, 2002. **A Cancer Journal for Clinicians**, 55:74-108 (2005).

PARRA, F. C.; AMADO, R. C.; LAMBERTUCCI, J. R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C. M.; PENA, S. D. J. **Color and genomic ancestry in Brazilians**. *Genetics*, 100:177-182 (2002).

PASCHOALIN, E.L.; MARTINS, A.C.; PASTORELLO, M.; SÂNDIS, K.A.; MACIEL, L.M.; SILVA, W.A.; ZAGO, M.A.; BESSA, J. JR. Racial influence on the prevalence of prostate carcinoma in Brazilian volunteers. **International Brazilian Journal Urology**, 29:300-5 (2003).

PAVANELLO, S.; CLONFERO, E. Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. **Mutation Research**, 463: 285-308, (2000).

PERERA, F. P. Environment and cancer: who are susceptible? *Science*, 278: 1068-1073, (1997).

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **Science of the Total Environment**, 188(1):86-98 (1996).

PITTSBURGH SUPERCOMPUTING CENTER (PSC). **The Gleason Score: A Significant Biologic Manifestation of Prostate Cancer Aggressiveness On Biopsy** [texto na Internet]. [acessado 2008 out].Disponível em: http://www.prostate-cancer.org/education/staging/Dowd_GleasonScore.html

PLASKON, L.A.; PENSON, D.F.; VAUGHAN, T.L.; STANFORD, J.L. Cigarette Smoking and Risk of Prostate Cancer in Middle-Aged Men. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 12: 604-609, (2003).

POLLAK, M.N.; SCHERNHAMMER, E.S.; HANKINSON, S.E. Insulin-like growth factors and neoplasia. **Nature Reviews Cancer**, 4:505-18 (2004).

POLLOCK, R.E.; DOROSHOW, J.H; KHAYAT, D.; NAKAO.; A.; O'SULLIVAN, B. Câncer de Próstata. In: **UICC Manual de Oncologia Clínica**. 8ª ed. São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo, pp584-598, (2006).

QUIÑONES, L.A.; IRARRÁZABAL, C.E.; ROJAS, C.R.; ORELLANA, C.E.; ACEVEDO, C.; HUIDOBRO, C.; VARELA, N.E.; CÁCERES, D.D. Joint effect among p53 CYP1A1, *GSTM1* polymorphism combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotypeenvironment interaction study. **Asian Journal Andrology**, 8: 349-355, (2006).

RAMACHANDRAN, S.; FRYER, A. A.; STRANGE, R.C. Genetic factors determining cutaneous basal cell carcinoma phenotype. **Medical and Pediatric Oncology**, 36:559-63, (2001).

RAUNIO, H.; HUSGAFVEL-PURSIAINEN, K.; ANTTILA, S.; HIETANEN, E.; HIRVONEN, A.; PELKONEN, O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility-a review. **Gene**, 159:113-21, (1995).

REBBECK, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes *GSTM1* and *GSTT1* in cancer susceptibility. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, 6: 733-743, (1997).

REBBECK, T. R.; JAFFE, J.M.; WALKER, A.H.; WEIN, A.J.; MALKOWICZ, S.B. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. **Journal of the National Cancer Institute**, 90: 1225-9, (1998).

RESZKA, E.; WASOWICZ, W. Genetic polymorphism of N-acetyltransferase and glutathione S-transferase related to neoplasm of genitourinary system. **Neoplasma** 49:209-216, (2002).

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. Genética do Câncer humano. In: **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 2003. Cap. 2, p. 29-48.

RIPPLE, G.H.; WILDING, G. Drug development in prostate cancer. **Seminars in Oncology**, 26:217-226, (1999).

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Câncer de Próstata. In: **Fundamentos de Patologia Estrutural e Funcional**. 6ª edição. Guanabara Koogan, pp 528-530, (2001).

RODVALL, Y.; DICH, J.; WIKLUND, K. Cancer risk in offspring of male pesticide applicators in agriculture in Sweden. **Occupational Environment Medicine**, 60:798-801 (2003).

ROHRMANN, S.; LINSEISEN, J.; KEY, T.J.; JENSEN, M.K.; OVERVAD, K.; JOHNSEN, N.F.; TJØNNELAND, A.; KAAKS, R.; BERGMANN, M.M.; WEIKERT, C.; NASKA, A.; TRICHOPOULOU, A.; TRICHOPOULOS, D.; PALA, V.; SACERDOTE, C.; PALLI, D.; TUMINO, R.; BUENO-DE-MESQUITA, H.B.; VRIELING, A.; GONZÁLEZ, C.A.; LARRAÑAGA, N.; NAVARRO, C.; BARRICARTE, A.; QUIROS, J.R.; MARTÍNEZ-GARCÍA, C.; HALLMANS, G.; STATTIN, P.; MANJER, J.; WIRFÄLT, E.; BINGHAM, S.; KHAW, K.T.; EGEVAD, L.; FERRARI, P.; JENAB, M.; RIBOLI, E. Alcohol consumption and the risk for prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **Cancer Epidemiology & Prevention**, 17:1282-7 (2008).

ROOS, P.H.; BELIK, R.; FOLLMANN, W.; DEGEN, G.H.; KNOPF, H.J.; BOLT, H.M.; GOLKA, K. Expression of cytochrome P450 enzymes CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1 and CYP4B1 in cultured transitional cells from specimens of the human urinary tract and from urinary sediments. **Archives of Toxicology**, 80: 45-52, (2006).

ROSSIT, A. R. B.; CABRAL, I. R.; CONFORTI-FROES, N. D. T. Avaliação das frequências alélicas de genes do biometabolismo em uma população brasileira. **Genetics and Molecular Biology**, 22:23, (1999).

RUSIECKI, J.A.; ROOS, A.; LEE, W.J.; DOSEMEDI, M.; LUBIN, J.H.; HOPPIN, J.A.; BLAIR, A.; ALAVANJA, M.C.R. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. **Journal of the National Cancer Institute**, 96:1375-82 (2004).

SALVAJOLI, J.V.et al. **Radioterapia em Oncologia**, Rio de Janeiro: MEDSI. P 1243, (1999).

SARMA, A.V.; DUNN, R.L.; LANGE, L.A.; RAY, A.; WANG, Y.; LANGE, E.M.; COONEY, K.A. Genetic polymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBP-3 and prostate cancer risk in African-American men: the Flint Men's Health Study. **The Prostate**, 68:296305, (2008).

SASAKI, M.; TANAKA, Y.; KANEUCHI, M.; SAKURAGI, N.; DAHIYA, R. CYP1B1 gene polymorphisms have higher risk for endometrial cancer, and positive correlations with estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta expressions. **Cancer research**, 63:3913-8, (2003).

SASAKI, M.; TANAKA, Y.; OKINO, S.T.; NOMOTO, M.; YONEZAWA, S.; NAKAGAWA, M.; FUJIMOTO, S.; SAKURAGI, N.; DAHIYA, R. Polymorphisms of the CYP1B1 gene as risk factors for human renal cell cancer. **Clinical Cancer Research**, 10:2015-9, (2004).

SATA, F.; SAPONE, A.; ELIZONDO, G.; STOCKER, P.; MILLER, V.P.; ZHENG, W.; RAUNIO, H.; CRESPI, C.L.; GONZALEZ, F.J. CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, 67:48-56, (2000).

SEIDEGARD, J.; PERO, R.W.; MARKOWITZ, M.M.; ROUSH, G.; MILLER, D.G.; BEATTIE, E.J. Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. **Carcinogenesis**, 11:33-6, (1990).

SERAFINI AN. Therapy of metastatic bone pain. **Journal of Nuclear Medicine**, 42:895-906, (2001).

SHARPE, C. R.; SIEMIATYCKI, J. Case-control study of alcohol consumption and prostate cancer risk in Montréal, Canada. **Cancer Causes & Control**, 12:589-98 (2001). SHERTZER, H.G.; NEBERT, D.W.; PUGA, A.; ARY, M.; SONNTAG, D.; DIXON, K.; ROBINSON, L.J.; CIANCIOLO, E.; DALTON, T.P. Dioxin causes a sustained oxidative stress response in the mouse. **Biochemical Biophysical Research Communications**, 253: 44-48, (1998).

SHIMADA T.; SUGIE, A.; SHINDO, M.; NAKAJIMA, T.; AZUMA, E.; HASHIMOTO, M.; INOUE, K. Tissue-specific induction of cytochromes P450 1A1 and 1B1 by polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in engineered C57BL/6J mice of arylhydrocarbon receptor gene. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 187:1-10, (2003).

SHIMADA, T.; FUJII-KURIYAMA, Y. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1. **Cancer Science**, 95:1-6, (2004).

SILIG, Y.; PINARBASI, H.; GUNES, S.; AYAN, S.; BAGCI, H.; CE-TINKAYA, O. Polymorphisms of CYP1A1, *GSTM1*, *GSTT1*, and prostate cancer risk in Turkish population. **Cancer investigation**, 24: 41–45, (2006).

SIMON, D.S.; GREGORY, J.H.; ANDREW, A.R.; KENNETH, M.A.; XINXIN, D.; LAURENCE, S.K. CYP1B1 expression in human lung. **Drug Metabolism and Disposition**, 29:916–922, (2001).

SMITS, K.M.; SCHOUTEN, L.J.; VAN DIJK, B.A.; VAN HOUWELINGEN, K.; HULSBERGEN-VAN, D.E.; KAA, C.A.; KIEMENEY, L.A.; GOLDBOHN, R.A.; OOSTERWIJK, E.; VAN DEN BRANDT, P.A. Polymorphisms in genes related to activation or detoxification of carcinogens might interact with smoking to increase renal cancer risk: results from The Netherlands Cohort Study on diet and cancer. **World Journal Urology**, 26:103-10, (2008).

SOBIN, L.H.; WITTEKIND, C.H. **TNM Classification of Malignant tumors**, 6^a ed. Wiley Liss, Nova York, (2002).

SOBTI, R.C.; ONSORY, K.; AL-BADRAN, A.I.; KAUR, P.; WATANABE, M.; KRISHAN, A.; MOHAN, H. CYP17, SRD5A2, CYP1B1, and CYP2D6 gene polymorphisms with prostate cancer risk in North Indian population. **DNA and Cell Biology**, 25:287-94, (2006).

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA / **Câncer de próstata, hiperplasia benigna e tratamento do câncer de próstata progressivo**. Disponível em: <http://www.uronews.org.br> (julho, 2003).

SOMMERKAMP, H. et al. **Brachytherapy of Prostatic Cancer. Interstitial Radiotherapy of Prostate Cancer**. Edited by Bruggmoser, G.; Sommerkamp, H. & Fed. Proc. v. 40, p. 1564, (1990).

SOMMER F, KLOTZ T, SCHMITZ-DRÄGER BJ. Lifestyle issues and genitourinary tumours. **World Journal of Urology**, 21(6):402-13, 2004.

SRIVASTAVA, D.S.; MANDHANI, A.; MITTAL, B.; MITTAL, R.D. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase genes (*GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1*) and susceptibility to prostate cancer in Northern India. **BJU International**, 95:170-3, (2005).

SROUGI, M. **Câncer da próstata: uma opinião médica**. In: **Artigo especial**. <http://www.uronline.unifesp.br/uronline/ed1098/caprostata.htm>. Acessado Nov 2008.

STOILOV, I.; AKARSU, A.N.; ALOZIE, I.; CHILD, A.; BARSOUH-HOMSY, M.; TURACLI, M.E.; OR, M.; LEWIS, R.A.; OZDEMIR, N.; BRICE, G.; AKTAN, S.G.;

CHEVRETTE, L.; COCA-PRADOS, M.; SARFARAZI, M. Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. **American Journal of Human Genetics**, 62:573-84, (1998).

STOVER P.J.; GARZA, C. Nutrition and developmental biology-Implications for public health. **Nutriton Reviews**, 64:60-71 (2006).

STRANGE, R.C.; SPITERI, M.A.; RAMACHANDRAN, S.; FRYER, A.A. Glutathione-S-transferase family of enzymes. **Mutation Research**, 482:21-26, (2001).

STURGIS, R.C.; WEI, Q.; SPITZ, M.R. Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer. **Seminars in Oncology**, 31: 726-33, (2004).

SUGIMURA, T.; KUMIMOTO, H.; TOHNAI, I.; FUKUI, T.; MATSUO, K.; TSURUSAKO, S.; MITSUDO, K.; UEDA, M.; TAJIMA, K.; ISHIZAKI, K. Gene-environment interaction involved in oral carcinogenesis: molecular epidemiological study for metabolic and DNA repair gene polymorphisms. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, 35:11-8, (2006).

TANAKA, Y.; SASAKI, M.; KANEUCHI, M.; SHIINA, H.; IGAWA, M.; DAHIYA, R. Polymorphisms of the CYP1B1 gene have higher risk for prostate cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 296: 820-6, (2002).

TAYEB, M.T.; CLARK, C.; HAITES, N.E.; SHARP, L.; MURRAY, G.I.; AND MCLEOD, H.L. CYP3A4 and VDR gene polymorphism and the risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. **Brisith Journal of Cancer**, 88: 928-932, (2003).

TOKIZANE, T.; SHIINA, H.; IGAWA, M.; ENOKIDA, H.; URAKAMI, S.; KAWAKAMI, T.; OGISHIMA, T.; OKINO, S.T.; LI, L.C.; TANAKA, Y.; NONOMURA, N.; OKUYAMA, A.; DAHIYA, R. Cytochrome P450 1B1 is overexpressed and regulated by hypomethylation in prostate cancer. **Clinical Cancer Research**, 11:5793-801, (2005).

TOMATIS. L.; HUFF, J.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; SANDLER, D.P.; BUCHER, J.; BOFFETTA, P.; AXELSON, O.; BLAIR, A.; TAYLOR, J.; STAYNER, L.; BARRETT, J.C. Avoided and avoidable risks of cancer. **Carcinogenesis**, 18:97-105 (1997).

UNIVERSDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP). Acessado 2008 Out. Disponível em: <http://www.unifesp.br/dcir/urologia/uronline>.

UKOLI, F.; OSIME, U.; AKEREYENI, F. et al. Prevalence of elevated serum prostate-specific antigen in rural Nigeria. **Internacional Journal Urology** 10:315–322, (2003).

VILLENUEVE, P.J.; JOHNSON, K.C; KREIGER, N. et al. Risk factors for prostate cancer: Results from Canadian National Enhanced Cancer Surveillance System –The Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. **Cancer Causes Control**, 10:355-367 (1999).

VOSO, M. T. L.; D'ALO', F.; GUMIERO, D.; GUIDI, F.; HOHAUS, S.; LEONE, G. The CYP1A1*2a allele is an independent prognostic factor for acute myeloid leukemia. **Haematologica**, 90:982-4, (2005).

WATANABE, J.; SHIMADA, T.; GILLAM, E.M.; IKUTA, T.; SUEMASU, K.; HIGASHI, Y.; GOTOH, O.; KAWAJIRI, K. Association of CYP1B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. **Pharmacogenetics**, 10:25-33, (2000).

WEINBERG, R. A. The integrations of molecular genetics into cancer management. **Cancer**, 70: 1653-1658, (1992).

WESTLIND, A.; LÖFBERG, L.; TINDBERG, N.; ANDERSSON, T.B.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Interindividual differences in hepatic expression of CYP3A4: relationship to genetic polymorphism in the 5'-upstream regulatory region. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 259:201-5, (1999).

WHITTEMORE, A.S.; WU, A.H.; KOLONEL, L.N.; JOHN, E.M.; GALLAGHER, R.P.; HOWE, G.R.; WEST, D. W.; THE, C.Z.; STAMEY, T. Family history and prostate cancer risk in black, white and asian men in the United States and Canada. **American Journal Epidemiology**, 141: 732-86, (1999).

WIDERSTEN, M.; PEARSON, W.R.; ENGSTROM, A.; MANNERVIK, B. Heterologous expression of the allelic variant M μ -class glutathione transferases μ and ψ . **Biochemical Journal**, 276:519-524,(1991).

WILLIAMS, J.A.; MARTIN, F.L.; MUIR, G.H.; HEWER, A.; GROVER, P.L.; PHILLIPS, D.H. Metabolic activation of carcinogens and expression of various cytochromes P450 in human prostate tissue. **Carcinogenesis**, 21:1683-1689, (2000).

WIREDU, E. K; ARMAH, H.B. Cancer mortality patterns in Ghana: a 10-year review of autopsies and hospital mortality. **BMC Public Health** 6:159, (2006).

WOGAN, G.N. Molecular epidemiology in cancer risk assessment and prevention: recent progress and avenues for future research. **Environmental Health Perspectives**, 98: 167-178, (1992).

WOLF, C.R. Cytochrome P-450s: polymorphic multigene families involved in carcinogen activation. **Trends in Genetics**, 2: 209-214, (1986).

WORMHOUDT, L.W.; COMMANDEUR, J.N.M.; VERMEULEN, N.P.E. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. **Critical Reviews in Toxicology**, 29:59-124, (1999).

WU, M.T.; LEE, J.M.; WU, D.C.; HO, C.K.; WANG, Y.T.; LEE, Y.C.; HSU, H.K.; KAO, E.L. Genetic polymorphisms of cytochrome P4501A1 and oesophageal squamous-cell carcinoma in Taiwan. **British Journal of Cancer**, 87:529-32, (2002).

YANG, J.; QIAN, L.X.; WU, H.F.; XU, Z.Q.; SUI, Y.G.; WANG, X.R.; ZHANG, W. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 1A1 and 2E1 genes, smoking, drinking and prostate cancer susceptibility: a case-control study in a Han nationality population in Southern China. **International Journal of Urology**, 13:773-780, (2006).

ZHONG, S.; WYLLIE, A.H.; BARNES, D.; WOLF, C.R.; SPURR, N.K. Relationship between the *GSTM1* genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. **Carcinogenesis**, 14:1821-4, (1993).

ANEXOS

ANEXO A
Informações ao Doador

Nome do projeto de pesquisa: “Marcadores moleculares em câncer de próstata.”

1 Justificativa e objetivos da pesquisa:

2 Procedimentos a serem utilizados:

Cerca de 200 pacientes com níveis de PSA acima de 4ng/ml aos quais foi indicada biópsia prostática por agulha ou prostatectomia radical serão submetidos aos seguintes procedimentos:

- a) Os doadores responderão a um questionário padrão referente ao seu grupo étnico, estilo de vida, idade, local de nascimento, hábito tabagista, história familiar de câncer etc... Nesta etapa eles poderão fazer todas as perguntas que acharem necessárias para um perfeito esclarecimento de todas as suas dúvidas.
- b) Um profissional da área de saúde, devidamente treinado, colherá cerca de 10 ml de sangue (punção venosa) com seringa plástica descartável, de cada voluntário.
- c) O sangue e uma amostra do tecido tumoral incluído em parafina serão levados ao Laboratório de Genética e Mutagênese da UEL e serão devidamente processados para extração do DNA e análise genética molecular através de uma técnica denominada PCR.
- d) Os resultados serão analisados e correlacionados com hábito de vida, idade, história familiar de câncer e outros fatores da vida de cada doador.
- d) O término deste estudo está previsto para aproximadamente 48 meses.

3 Desconforto e Riscos:

Durante a colheita do sangue o doador poderá sentir desconfortos, ou uma ligeira dor decorrente da picada da agulha no braço, ou ainda, dependendo do estado emocional da pessoa, sentir pânico ao ver seu próprio sangue ou mesmo uma fobia pela agulha da seringa. Às vezes podem ocorrer sentimentos de desconfiança por parte do doador

em relação ao profissional que está retirando o sangue. Quanto aos riscos de se doar sangue, estes são inexistentes, pois todo o material utilizado será descartável, eliminado qualquer possibilidade de contaminação por esta via. Também não há riscos de perda de sangue neste processo.

4 Benefícios esperados:

Os benefícios com relação a este estudo se constituirão em informar ao médico oncologista responsável os resultados obtidos nesta pesquisa e suas implicações ao paciente. O médico, por sua vez, ficará encarregado de passar as informações pertinentes ao paciente.

5 Informações adicionais a respeito deste estudo:

O sangue será coletado com seringas e agulhas estéreis e descartáveis e juntamente com o tecido tumoral serão processados nas dependências da UEL, em ambiente esterilizado e por profissionais adequados. No entanto, existem diferenças entre as células dos indivíduos em responder às técnicas utilizadas e, portanto, em alguns casos, há a necessidade de se repetir a colheita do material. Caso isto aconteça, o doador poderá ser contactado para uma nova doação de sangue.

6 Confiabilidade do estudo:

Os doadores em hipótese alguma terão sua identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, além daquelas que participam efetivamente do estudo. Também serão mantidas em sigilo todas as informações obtidas e que estejam relacionadas com a privacidade do doador.

7 Acesso às informações obtidas:

Os pesquisadores e a Comissão de Ética que aprovou este estudo comprometem-se a fornecer aos doadores todas as informações que venham a ser obtidas durante a pesquisa.

ANEXO B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Os Departamentos de Biologia Geral, de Patologia e Análises Clínicas e o Serviço de Urologia do Departamento de Clínica Cirúrgica, todos pertencentes à Universidade Estadual de Londrina, juntamente com o Setor de Urologia do Hospital do Câncer de Londrina e Setor de Urologia do Hospital Evangélico de Londrina e o Setor de Genética da Unopar (pesquisadores e médicos), desenvolvem pesquisas para obter maior conhecimento sobre o câncer de próstata. Por meio destas pesquisas é possível conhecer melhor a doença e, dessa forma, oferecer novas possibilidades de diagnóstico e tratamento.

Estas pesquisas exigem materiais provenientes das lesões estudadas, obtidas a partir do tecido incluído em parafina, assim como uma amostra de 10 ml de sangue para a análise em laboratório. Após a retirada da lesão, por meio de cirurgia, o material será processado, sendo que fragmentos de tecido incluído em parafina serão obtidos e utilizados para as pesquisas. A obtenção deste fragmento não implicará em riscos adicionais à sua saúde, pois ocorrerá após o procedimento cirúrgico. O seu desconforto será

o procedimento de rotina para obtenção do sangue (picada, cirurgia), já que é uma parte deste material que será utilizada para o estudo.

Os materiais biológicos obtidos do sangue e do tecido receberão, no laboratório, códigos de números, preservando assim sua identidade, e serão armazenados num banco de amostras exclusivas para estas pesquisas.

A inclusão dos resultados em publicação científica será feita de forma a preservar o seu anonimato.

O projeto de pesquisa proposto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina, Hospital do Câncer de Londrina e Hospital Evangélico de Londrina.

Concordando com o uso destes materiais do modo descrito acima, é necessário esclarecer que sua participação é voluntária e não lhe trará gasto e você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados desta pesquisa. Esclarecemos que não havendo concordância com a coleta, esta decisão não influenciará de modo algum, no seu tratamento.

No caso de autorização, você receberá uma cópia deste documento e o original será arquivado em seu prontuário no hospital.

Nome do paciente ou representante legal

Assinatura

Número do RG no Hospital: _____

Médico Responsável: _____

Pesquisador Responsável: _____

Londrina, _____ de _____ de 2006

ANEXO C
Questionário Pessoal

Por favor, leia as questões seguintes cuidadosamente e responda-as da forma mais completa e precisa possível. A informação que você der não será associada a seu nome em nenhum documento público, e será conhecida somente dos principais pesquisadores deste estudo. As informações que você der podem ter influencia direta na interpretação de nossos resultados, portanto, pedimos que coopere gentilmente, fornecendo informações corretas. Obrigado pelo interesse.

1-

Nome: _____

—

último

primeiro

do meio

2-A ser preenchido pelo pesquisador:

Código: _____

Data: ___/___/___

Esta folha deve ser destacada do restante do questionário e preenchida pelo pesquisador. Somente o código será usado como identificação para as páginas subsequentes. Se for necessário espaço adicional para complementar a sua resposta, por favor escreva no verso da página e identifique a parte restante da questão com seu respectivo número.

Código nº _____

HISTÓRIA PESSOAL

1-Registro hospitalar: _____

2-Sexo: () masculino

3-Qual a cor da sua pele?

Negro () Branco () Amarelo () Outros ()

4-Idade: a) 35 –50 anos. b) mais que 50 anos.

5-Local de nascimento: Paraná ? () SIM () NÃO

Se NÃO : Que região brasileira ? Norte () Sul () Nordeste () Centro-Oeste () Sudeste ()

6-Sua moradia é na zona rural ou urbana? () Rural () Urbana

7-Quanto tempo vive neste local? _____anos _____meses

8-Qual o seu grau de instrução?

() analfabeto () 1º grau incompleto () 1º grau completo () 2º grau incompleto

() 2º grau completo () técnico () profissional () superior

Histórico de exposição relacionado ou não ao trabalho

9-Você já se expôs a alguma destas substâncias abaixo em seu trabalho? Se SIM, por quanto tempo e a quanto tempo foi isso: _____

Derivados de petróleo (querosene, gasolina, solventes,...)	()sim	()nao
Tintas/ corantes	()sim	()nao
Indústrias têxteis ou tecelagem	() sim	() nao
Praguicidas / Herbicidas	()sim	()nao
Radiação	()sim	()nao
Metais pesados (Pb, Ni, Cr,...)	()sim	()nao
Processamento de madeira	()sim	()nao
Papel ou celulose	()sim	()nao
Mineração	()sim	() não
Fábrica de sapatos ou curtume	()sim	()nao
Metalúrgica	()sim	()nao
Usina de açúcar ou álcool	()sim	()nao
Plástico ou borracha	()sim	()nao
Outras substâncias químicas:	()sim	()não

10-Se SIM para a pergunta acima: Você utilizava equipamentos de proteção individual para trabalhar com essas substâncias químicas ? (máscaras, luvas, óculos,...) a) ()sim b)()não

Histórico Tabagista

11-Você fuma atualmente ? () SIM () NÃO

12-Se SIM, quanto você fuma por dia ? () menos de ½ maço

()demeio1maço

()mais de um maço

13-Se NÃO, mas já fumou algum dia : há quanto tempo parou de fumar?

a) () 0-5anos b) ()5-10anos c) ()>10

14-Você convive/conviveu em seu trabalho ou em casa com pessoas que fumam?

a) () SIM b) () NÃO

Histórico de Etilismo

15-Você consome bebidas alcoólicas? () SIM () NÃO

16-Se SIM, que tipo de bebida alcoólica você costuma consumir?

a) () Destiladas b) () Não-Destilada c) () Outra d) () Ambas

17-Quanto você costuma beber por semana?

() nomáximoum copo () de2a5 copos () de6a10 () maisde10

18-Se já parou, há quanto tempo parou de consumir esta bebida?

a) () 0-5anos. b) () 5–10anos. c) () mais10anos.

19-Quanto você costumava beber por semana?

() no máximo um copo () de 2 a 5 copos () de 6 a 10 () mais de 10

20-Durante a sua vida, já consumiu ou consome alguma bebida diariamente por mais de 6 meses continuamente?

() SIM () NÃO

Histórico de Saúde

21-Nos últimos 12 anos você automedicou-se ou recebeu medicamentos?

() SIM () NÃO () não sabe

Se SIM

() Hormônio

() Anti-inflamatório

() Analgésicos

() Antipertensivos

() Anabolizantes

() Outros

22-Você toma vitaminas ou tem tomado nos últimos seis meses?

() SIM () NÃO () não sabe

23-Você já foi submetido a cirurgia nos testículos?

() SIM () NÃO

Qual? _____

24-Você foi tratado anteriormente de algum tipo de câncer? () SIM () NÃO

Qual? _____

25-Você tem antecedentes de câncer na sua família? () SIM () NÃO

26-Em casos de câncer na família, qual era o vínculo de parentesco?

() Pai () Mãe () Irmão () Filho () Tio () Primo () Outro

27-Qual foi a localização do tumor?

() Próstata () Mama () Outro (qual?) _____

28-Você já teve alguma doença sexualmente transmissível?

() SIM () NÃO

Se SIM, qual? _____

Histórico alimentar: (refira-se somente a hábitos freqüentes)

29-Você se alimenta apenas de vegetais? () SIM () NÃO

30-Você come carne? () SIM () NÃO

31- Se SIM, com que frequência voce come estes alimentos:

	Dias/Semana			
	1-2	3-4	5-6	Diariamente
Carne de gado	()	()	()	()
Peixe	()	()	()	()
Frango	()	()	()	()
Porco	()	()	()	()
Outros	()	()	()	()

Histórico genético

32- Voce possui algum irmao identico? () SIM () NÃO

Incluir informações das amostras do tumor (localização, laudo histo-patológico):
