

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E**  
**BIOLOGIA MOLECULAR**



**POLIMORFISMOS DO GENE DE E-CADERINA E O RISCO DE**  
**CÂNCER DE PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO DA BAHIA**

**LEONARDO MOREIRA SANTOS**

**ILHÉUS – BAHIA – BRASIL**  
**Fevereiro de 2010**

LEONARDO MOREIRA SANTOS

**POLIMORFISMOS DO GENE DE E-CADERINA E O RISCO DE CÂNCER DE  
PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO DO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual de Santa Cruz,  
como parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre em  
Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: genética e  
biologia molecular.

**ILHÉUS – BAHIA – BRASIL**

**Fevereiro de 2010**

LEONARDO MOREIRA SANTOS

POLIMORFISMOS DO GENE DE E-CADERINA E O RISCO DE CÂNCER DE  
PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO DO SUL DA BAHIA

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual de Santa Cruz,  
como parte das exigências para  
obtenção do título de Mestre em  
Genética e Biologia Molecular.

Área de Concentração: genética e  
biologia molecular.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2010

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kiyoko Abé Sandes  
(UNEB)

Prof. Dr. Giuliano Di Pietro  
(UESC)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Acássia Benjamin Leal Pires  
(UESC)

Prof. Dr. Ronan Xavier Corrêa  
(UESC)

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ely Alves dos Santos e Iraildes Moreira Santos,  
ao meu irmão Fabrício Moreira Santos e à minha noiva Adriana Lima,  
pelo amor incondicional, pela imensa dedicação e pelo apoio  
na realização de mais um sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

Inicialmente, a Deus, pela minha vida, saúde e saber.

Aos meus pais Ely Alves dos Santos e Iraldes Moreira Santos, pela dedicação apoio e pelo incentivo dispensado ao longo desta caminhada.

À minha noiva Adriana Lima que muito me compreendeu nos momentos de estresse.

Aos mestres que tanto auxiliaram na transmissão dos conhecimentos.

Ao meu orientador Dr. Ronan Xavier Corrêa, por compartilhar do seu conhecimento, da sua amizade e principalmente pela paciência e confiança depositada em mim.

Ao meu co-orientador Dr. Fabrício Rios Santos, que juntamente com orientador auxiliou na busca dos conhecimentos necessários para a realização deste trabalho.

Especialmente à minha co-orientadora Dr<sup>a</sup> Sandra Mara Bispo Sousa, pelo grande apoio dado no cumprimento de mais uma etapa de minha vida.

Aos meus colegas Thiago, Gustavo, Pedro e Viviane, do laboratório de farmacogenômica e epidemiologia molecular (LAFEM) que por muitas vezes se dispuseram a me auxiliar nos momentos de dificuldade e compartilharam indistintamente de suas amizades.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa.

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), pelo financiamento do meu projeto.

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, pelo apoio logístico.

Ao Departamento de Ciências Biológicas (DCB), pelo apoio.

Ao professor Carlos Priminho Pirovani, pelo auxílio na retirada das dúvidas e pelos ensinamentos.

Ao professor Júlio César de Mattos Cascardo, pela colaboração na execução de parte do projeto.

À professora Fernanda Amato Gaiotto, pelo auxílio e pelas sugestões.

Aos colegas de laboratório Gislaíne, Mariana, Elaine, Marla, Jeiza, Bruna, André, Lívia e Claudine, pelo auxílio em alguns momentos, estímulo e companhia agradável, tornando os meus dias laboriosos e estressantes de trabalho, em dias alegres.

Ao Cristiano por compartilhar dos seus conhecimentos, pelas dicas e sugestões nos momentos de dúvida e principalmente pela disposição em ajudar na solução dos problemas provenientes do andamento da pesquisa.

Ao Ari Paranhos, pela colaboração imprescindível para a realização deste projeto, pela paciência e boa receptividade além das sugestões com relação ao melhor andamento da pesquisa.

Aos médicos das clínicas oncológicas e hospitais que sempre se dispuseram a colaborar com meus estudos.

Agradeço de modo geral a todos os que contribuíram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho.

SANTOS, Leonardo Moreira, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, fevereiro de 2010. **POLIMORFISMOS DO GENE DE E-CADERINA E O RISCO DE CÂNCER DE PRÓSTATA EM UMA POPULAÇÃO DO SUL DA BAHIA.** Orientador: Ronan Xavier Corrêa. Co-orientadores: Fabrício Rios Santos e Sandra Mara Bispo Sousa.

## EXTRATO

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células. As causas do câncer podem ser tanto por fatores externos como fatores internos. O câncer é a segunda principal causa de morte em países economicamente desenvolvidos e a terceira principal causa de morte nos países em desenvolvimento. Com o conhecimento sobre mecanismos moleculares da oncogênese advindo das técnicas de biologia molecular possibilitou o desenvolvimento de técnicas moleculares de diagnóstico e alternativas de tratamento. As caderinas são glicoproteínas transmembranares de 120 pb, cálcio dependentes, com função de promoção da adesão intercelular. Como a maioria dos tumores é de origem epitelial, a E-caderina tem sido intensamente estudada em relação a sua função na gênese e metástase do tumor. Os estudos recentes sobre a função da E-caderina mostram a importância desta molécula também na redução da proliferação celular. Desta forma, objetivou-se no presente trabalho caracterizar a população do sul da Bahia relativamente ao polimorfismo -160 C/A e -347 G/GA da região promotora, no gene CDH1 da E-caderina e determinar o risco relativo de câncer da próstata associado a esses polimorfismos. Como resultados, os indivíduos portadores de pelo menos uma cópia do alelo mutante do SNP -347 G/GA apresentaram um risco significativo (OR = 1,70, IC 1,03 – 3,08, p = 0,038) e os heterozigotos do SNP – 160 C/A apresentaram-se como fator de risco para o câncer de próstata elevado em 1,88 vezes em relação ao genótipo

selvagem. Concluimos que a identificação de fatores de risco genético para o câncer de próstata contribuirá para detecção precoce da doença.

**Palavras-chave:** câncer, próstata, polimorfismo, E-caderina, CDH1.

## **ABSTRACT**

SANTOS, Leonardo Moreira, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, February 2010. **E-cadherin gene polymorphisms and the risk of prostate cancer in a population of the south of the Bahia** . Advisor: Ronan Xavier Corrêa. Co-advisors: Fabrício Rios Santos and Sandra Mara Bispo Sousa.

**O ABSTRACT SERÁ INCLUÍDO APÓS AVALIAÇÃO DO EXTRATO PELA  
BANCA!**

## ÍNDICE

EXTRATO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. E-CADERINA: características, funções e correlação com câncer .....	4
2.1 O CÂNCER DE PRÓSTATA: características, diagnóstico e tratamento.....	9
3. METODOLOGIA.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	17
4.1 Análises Moleculares .....	17
4.2. Análises Estatísticas .....	18
5. CONCLUSÕES .....	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer acompanha a humanidade desde o seu primórdio. A mais antiga evidência de câncer foi encontrada em fósseis datando 10.000 a.C. As primeiras descrições de tumores foram mencionadas em papiros da Índia (600 a.C.), Egito (1600 a.C.), Babilônia e Grécia. O grego Hipócrates (460 a 370 a.C.) foi quem usou o termo carcinoma pela primeira vez (RUBIN e FARBER, 2002). Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo (MOTTA, 2002; INCA, 2009). Esse crescimento desordenado leva a formação de uma massa de células chamada neoplasia ou tumor e a esse processo dá-se o nome de tumorigênese (JORDE, 2000).

As causas do câncer podem ser tanto por fatores externos (químicos, físicos ou biológicos) como fatores internos (mutações herdadas, hormônios, condições imune e mutações que ocorrem a partir de metabolismo) (GARCIA M. *et al.*, 2007). Estes fatores podem promover mudanças na função ou expressão de genes relacionados ao desenvolvimento, diferenciação, proliferação, sobrevivência, senescência celular e reparo genético, como consequência de mutação, translocação, amplificação, deleção ou de processos epigenéticos. Tais alterações formam a base primária da carcinogênese (JORDE, 2000; POLLOCK *et al.*, 2006).

O câncer é a segunda principal causa de morte em países economicamente desenvolvidos seguido pelas doenças cardíacas, e a terceira principal causa de morte nos países em desenvolvimento após doenças cardíacas e doenças diarréicas

(GARCIA M. *et al.*, 2007). No mundo, mais de 670.000 homens são diagnosticados com câncer de próstata a cada ano (CANCERSTATS, 2009). Esta doença é de alta prevalência na América do norte, leste e oeste europeu em comparação com outras regiões do mundo (TROTIER *et al.*, 2010 e KAMOTO *et al.*, 2005) representando um desafio a saúde pública (KAMOTO *et al.*, 2005). No Brasil, as estimativas, para o ano de 2010, apontam a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer. O número de casos novos de câncer de próstata estimado será de 52.350, ultrapassando assim o de mama nas mulheres (INCA, 2009).

Há mais de 30 anos a combinação de toque retal e dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA) vêm sendo utilizada no rastreamento do câncer prostático, e a biópsia prostática por meio de ultrassonografia (US) transretal estabeleceu-se como método necessário e suficiente para confirmação histológica (BORLEY e FENELEY, 2009). O principal problema decorrente do câncer de próstata é a sua propensão para metástase. Esta tendência surge de mecanismos moleculares específicos e interações que juntos levam a invasão local, extravasamento e metástase (CLARKE *et al.*, 2009). As vias através das quais uma célula torna-se maligna são muito variáveis e a descoberta dos genes envolvidos neste processo representou um marco no entendimento das bases moleculares do câncer. Assim, os oncogenes e os genes supressores de tumor desempenham um papel fundamental na gênese tumoral, e o aumento do conhecimento sobre eles, sem dúvida, contribuiu de forma decisiva para o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais sensíveis e permitir uma atuação melhor, mais específica e eficaz no campo da prevenção, prognóstico, seguimento e terapêutica dos pacientes (PARMIGIANI e CAMARGO, 2004).

O uso de drogas antitumorais baseadas em telomerase aumenta o grau de especificidade e diminui a toxicidade em tecidos normais sugerindo que tais drogas, como GRN163L podem ter ampla aplicação terapêutica (HARLEY, 2008). Além da utilização de drogas com menores efeitos colaterais, a tendência de reprogramação de vírus para tratamentos oncológicos foi evoluindo à medida que surgiram técnicas que permitiram entender o tropismo molecular das mais diferenciadas famílias virais e as peculiaridades das células cancerosas (CATTANEO *et al.*, 2008). A identificação de novos marcadores moleculares para o câncer de próstata permite o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, com aplicações adicionais (AGRAWAL *et al.*, 2009).

O conhecimento sobre mecanismos moleculares da oncogênese advindo das técnicas de biologia molecular possibilitou o desenvolvimento de técnicas moleculares de diagnóstico e alternativas de tratamento. Por exemplo, o teste de PCA<sub>3</sub> consiste em dosar o mRNA das células provenientes da urina (HESSELS.e SCHALKEN, 2009). Este é o mais novo teste baseado em ácidos nucleicos para diagnóstico do câncer. No entanto, ainda se justifica a busca de testes que permitam o prognóstico da doença. Desta forma, o conhecimento sobre os polimorfismos nas populações poderá trazer evidências úteis no desenvolvimento de novos testes prognósticos com menos influência do meio. Desta forma, objetivou-se no presente trabalho caracterizar a população do sul da Bahia relativamente ao polimorfismo -160 C/A e -347 G/GA da região promotora, no gene CDH1 da E-caderina e determinar o risco relativo de câncer da próstata associado a esses polimorfismos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. E-CADERINA: características, funções e correlação com câncer

As caderinas são glicoproteínas (TAKEICHI, 1991) transmembranares (BERX e VAN ROY, 2001; KNUDSEN e WHEELLOCK, 2005; CLARKE *et al.*, 2009) de 120 pb (TAKEICHI, 1991), cálcio dependentes (LODISH *et al.*, 2000, OKEGAWA *et al.*, 2002 e WANG *et al.*, 2008), com função de promoção da adesão intercelular (KNUDSEN e WHEELLOCK, 2005) associadas às proteínas conhecidas por cateninas, estabelecimento e manutenção da polaridade epitelial (TAKEICHI, 1991). Além disso, elas estão altamente expressas em células epiteliais normais e pouco expressas em vários tipos de cânceres (WANG *et al.*, 2008) incluindo o câncer de próstata (CLARKE *et al.*, 2009). Alterações na sua função devem-se a diversos fatores, incluindo mutações no DNA que originam uma seqüência polipeptídica alterada ou metilação de ilhas 5'CpG do gene de E-Caderina são observadas em inúmeros cânceres. A perda alélica é um processo comum no adenoma prostático, presente em mais de 50% dos casos nos cromossomos 8p, 10q, 13q, 16q (GIRÃO *et al.*, 2005).

O loco gênico que codifica a E-caderina situado na posição 16q22.1 (GRUNWALD, 1993) é considerado um gene supressor de tumor (OKEGAWA *et al.*, 2002) e a perda de função permite deslocamento celular e induz a um fenótipo invasivo (CLARKE *et al.*, 2009). Em trabalhos de transfecção de cDNA de E-caderina em células de cães e ratos com adenocarcinoma invasivo foi

observada mudança das mesmas para o caráter não invasivo (VLEMINCKX *et al.*, 1991).

As E-caderinas são consideradas os principais componentes na junção de aderência transmembranosa de células epiteliais de todos os órgãos (TAKEICHI, 1991). Como a maioria dos tumores é de origem epitelial, a E-caderina tem sido intensamente estudada em relação a sua função na gênese e metástase do tumor, uma vez que sua não associação com  $\beta$ -cateninas favorece a ativação da via de sinal de transdução Wnt/ $\beta$ -catenina (CHAN, 2006), promovendo a expressão de oncogenes como ciclina D1 e c-Myc, estimulando assim a proliferação celular (GIRÃO *et al.*, 2005).

Os desmossomos unem as células epiteliais, as células mioepiteliais e os dois tipos de células entre si, tornando-os essenciais para o estabelecimento do arranjo de dupla camada (RUNSWICK *et al.*, 2001). Suas uniões, localização celular e atividade funcional são reguladas, em parte, pelos complexos clássicos de adesão das caderinas (KNUDSEN e WHEELLOCK, 2005), portanto, a perda da forte adesão que os desmossomos promovem pode desencadear importante atuação na disseminação das células tumorais (COWIN *et al.*, 2005; KNUDSEN e WHEELLOCK, 2005).

Existem mais de 40 caderinas diferentes conhecidas (LODISH *et al.*, 2000), sendo que as mais estudadas são as caderinas E (epitelial), P (placentária) e N (neural), conhecidas como caderinas clássicas (ROWLANDS *et al.*, 2000).

A atividade das caderinas é regulada por múltiplos mecanismos, incluindo a interação com as proteínas intercelulares denominadas cateninas, eventos de fosforilação e extravasamento de conteúdo extracelular (SOLER *et al.*, 2002). O complexo caderina-catenina desempenha um importante papel na morfogênese, na arquitetura tecidual e na progressão do câncer. Esses complexos são conhecidos por influenciar as metástases e a invasão das células neoplásicas por um processo envolvendo a perda da adesão celular (YOSHIDA *et al.*, 2001).

O rompimento do complexo caderina-catenina produz alterações significativas no comportamento celular (CLARKE *et al.*, 2009), pois ele media mecanismos de transdução de sinal e regula o crescimento e diferenciação celular (OKEGAWA *et al.*, 2002).

Segundo BUSSEMAKERS *et al.* (1992), existe uma correlação inversa entre o RNA mensageiro da E-caderina e a habilidade da célula tumoral para metástase,

sugerindo que a E-caderina pode estar envolvida na progressão do tumor pela ruptura da comunicação célula-célula.

Os estudos recentes sobre a função da E-caderina mostram a importância desta molécula também na redução da proliferação celular. Dois mecanismos de redução pela E-caderina são conhecidos. No primeiro a E-caderina inibe a mitose, utilizando o receptor do fator de crescimento epidermal, o qual regula o nível de p27 nas células. A p27 é uma proteína da família dos inibidores das quinases dependentes de ciclina que medeia a interrupção do ciclo celular bloqueando a transição da fase G1 para a S (TOYOSHIMA e HUNTER, 1994). O segundo mecanismo é mediado pela  $\beta$ -catenina, quando livre atua na transcrição celular. A quantidade desta catenina livre pode ser originada da redução de expressão da E-caderina ou da mutação gênica (BRUNETTI *et al.*, 2005). SHAH *et al.* (2006) realizaram experimentos em células cancerosas prostáticas andrógeno-dependentes e independentes e observou que a atividade de  $\beta$ -Catenina também é modulada pelo nível da enzima ácido graxo sintase (FIORENTINO *et al.*, 2008). A  $\beta$ -catenina tem uma função importante na organogênese e no câncer em seres humanos devido a sua dupla função, pois atua tanto no complexo de adesividade como na regulação de tradução ou transcrição (HATSELL *et al.*, 2003 e CLARKE *et al.*, 2009). Na próstata e em outras estruturas, uma chave reguladora da ligação célula-célula é o complexo caderina-catenina (CLARKE *et al.*, 2009).

Entre as diversas classes de caderinas, a E-caderina é a que se encontra mais frequentemente alterada em tumores. Diferentes estudos revelam que a E-caderina é frequentemente inativada durante o desenvolvimento de carcinomas humanos, incluindo carcinomas de mama, cólon, próstata, estômago, fígado, esôfago, pele, rim e pulmão (MELO *et al.*, 2003). A inibição da função da E-caderina pode ocorrer por diversos mecanismos, entre eles mutação ou deleção do gene CDH1, rearranjo cromossômico ou hipermetilação (MELO *et al.*, 2003).

Vários elementos de atividade cis tem sido identificados dentro do polimorfismo do gene da E-caderina, incluindo dois E box, um CAAT Box e um sítio de ligação rico em GC SP1 Box (NAKAMURA *et al.*, 2002 e GIROLDI *et al.*, 1997).

Segundo CHENG L. *et al.* (1996), UMBAS R. *et al.* (1994) e DUNSMUIR *et al.* (2000), no câncer de próstata, a baixa expressão de E-caderina é correlacionada com transformações malignas do epitélio prostático, maior grau do tumor, metástase óssea e com mau prognóstico. Essas conseqüências também são observadas na

presença de anormalidades na localização celular da E-caderina (UMBAS *et al.*, 1992).

As variações de DNA ocorrem por motivos diversos e dependendo da sua frequência e habilidade de causar doenças, essas variações são chamadas de polimorfismos (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2004). Estudos recentes, têm demonstrado uma forte associação entre genótipos dos SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) – 160 C/A, - 347 G/GA com o câncer de ovário (Li *et al.*, 2007), – 347 G/GA com câncer colorretal e gástrico (SHIN *et al.*, 2004 e ZOU *et al.*, 2009), câncer de esôfago (ZHANG, *et al.*, 2005), – 160 C/A com o câncer de próstata (JONSSON *et al.*, 2004; GIRÃO *et al.*, 2005; KAMOTO *et al.*, 2005; VERHAGE *et al.*, 2002; LI *et al.* (2000); WANG *et al.*, 2008) apesar de entender que esta patologia também se associa a outros genes como mostra o trabalho de revisão de Di PIETRO *et al.*, (2010) citando vários autores que demonstraram a relação entre as variações genéticas do GST ao câncer de próstata, no qual as mutações promovem um aumento no risco em desenvolver a doença.

Vários genes mutados estão sendo associados ao câncer de próstata, tais como: TP53, PTEN, RB, CDKN2, AR (receptor de andrógenos) e CTNNB1. O SNP mais comum foi observado em TP53 e é característico de doença em estágio avançado. Os genes MSH2 e PMS2 têm sido com mutações na linhagem celular da próstata cancerígena (GRANGEIRO *et al.*, 2004 e MAKRIDAKIS, 2001). Por exemplo, o polimorfismo de AR localizado no exon 1, altera a atividade transcricional, modificando a regulação da ação do andrógeno nos tecidos, incluindo na próstata. As células prostáticas se tornam mais sensíveis a ação do andrógeno o que aumento o risco de câncer de próstata por hiperestimulação crônica (COUGHLIN e HALL, 2002).

TORKKO *et al.* (2008), realizou um estudo de associação dos polimorfismo VDR (receptores de vit. D) e SDR5A2 (5  $\alpha$  redutase tipo II – enzima que metaboliza a testosterona) em espanhóis e encontrou aumento de risco para o câncer de próstata.

NAM *et al.* (2005) examinou 13 polimorfismo (TNF308, GSTT1, KLK2, Endostatina, MCRA, MCRV, Tirosina, MSR1, CHK2, RNASEL, HOGG1-326, HOGG1-11657 e HRAS1) em locos diferentes e encontrou associação positiva em TNF308 (OR = 1,92, IC 1,0 – 1,5, p = 0,05) e KLK2 (OR = 1,5, IC 1,0 – 2,2, p = 0,04)

e associação negativa com o GSTT1 (OR = 0,81, IC 0,6 – 1,0, p = 0,06) e HOGG1-326 (OR = 0,62, IC 0,5 – 1,0, p = 0,05).

**Tabela 1:** Estudos de polimorfismos associados ao câncer de próstata.

Autor	Polimorfismos	Nº Amostra	OR (95% IC)	p	População
LINDSTRÖM <i>et al.</i> , 2008	cromossomo Y	1447 casos 983 cont.	OR = 0,65 (0,4 - 1,2)	0,17	Suecos
SHOOK <i>et al.</i> , 2007	RNASEL 1q25	430 casos 503 cont.	OR = 1,3 (0,86 - 1,98)	0,21	Não-Espanhóis Caucasianos
		150 casos 239 cont.	OR = 4,43 (1,68 - 11,68)	<b>0,003*</b>	Espanhóis Caucasianos
		68 casos 145 cont.	OR = 10,41 (2,62 - 41,40)	<b>0,001*</b>	Afro-Americanos
NAM <i>et al.</i> , 2005	TNF	996 casos, 1092 cont.	OR = 1,92 (1,0 - 3,8)	<b>0,04*</b>	Canadenses
	GSTT1		OR = 0,81 (0,6 - 1,0)	<b>0,04*</b>	
	KLK2		OR = 1,49 (1,0 - 2,2)	<b>0,02*</b>	
	Endostatina		-	0,39	
	MC1R-160		-	0,12	
	MC1R-92		-	0,71	
	Tirosinase		-	0,86	
	MSR1		-	0,26	
	CHK2		-	0,51	
	RNASEL		-	0,81	
HOGG1-326	OR = 0,68 (0,5 - 1,0)	<b>0,03*</b>			
HOGG1-11657	-	0,67			
AGALLIU <i>et al.</i> , 2009	BRCA1	979 casos, 1251 cont.	-	-	Judeus
	BRCA2		OR = 1,9 (0,9 - 4,1)	-	
KARLSSON <i>et al.</i> , 2006	Erβ	1425 casos, 801 cont.	OR = 1,22 (1,02 - 1,46)	<b>0,03*</b>	Suecos

KAMOTO <i>et al.</i> , 2005	E-caderina -160 C/A	236 casos, 248 cont.	OR = 1,93 (1,13 - 3,29)	<b>0,016*</b>	Japoneses
GOTO <i>et al.</i> , 2007	E-caderina -160 C/A	200 casos, 159 cont.	OR = 1,88 (1,25 - 2,83)	<b>0,002*</b>	Japoneses
POOKOT <i>et al.</i> , 2006	E-caderina -160 C/A	135 casos, 237 cont.	OR = 3,04 (1,26 - 7,32)	<b>0,003*</b>	Norte Americanos Branços
			OR = 0,4 (0,08 - 2,00)	<b>0,009*</b>	Norte Americanos Negros
DONG <i>et al.</i> , 2008	AR	1918 casos	OR = 1,31 (1,06 - 1,61)	<b>0,011*</b>	Estudo Baseado em 161 Meta- Análises
	E-caderina -160 C/A	2633 casos	OR = 1,31 (1,08 - 1,60)	<b>0,007*</b>	
	CYP17	8013 casos	OR = 1,08 (1,00 - 1,15)	<b>0,03*</b>	
	RNASEL	3038 casos	OR = 1,27 (1,13 - 1,44)	<b>0,0001*</b>	

## 2.1 O CÂNCER DE PRÓSTATA: características, diagnóstico e tratamento

A próstata é uma glândula localizada na parte inferior da bexiga, perfurada pela uretra, que apresenta como principal função a produção de fosfatase ácida, fibrinolizina e ácido cítrico diretamente na luz da uretra. Com a idade, o estroma da próstata e as glândulas da mucosa e submucosa crescem em uma condição conhecida como hiperplasia prostática benigna – HPB (GARTNER e HIATT, 2003; GUYTON e HALL, 2002). Apesar de ser considerado um processo fisiológico normal, a hiperplasia da próstata pode evoluir para o câncer. Muitos fatores estimulantes têm sido identificados influenciando a metástase óssea no câncer de próstata tais como: os fatores estimuladores de osteoblastos, fatores de crescimento vascular, IGF-1 entre outros (CLARKE *et al.*, 2009).

O câncer de próstata tem sido associado a vários fatores de predisposição como a obesidade, a ingestão de gordura e a síndromes metabólicas (FIORENTINO *et al.*, 2008). A superexpressão e o ganho no número de cópias do gene da enzima ácido graxo sintase também foram observadas em tecidos de pacientes com diversas neoplasias (SHAH *et al.*, 2006). As diferentes taxas de prevalência do câncer de próstata entre regiões do mundo não estão relacionadas apenas a fatores geográficos, mais também a extremas diferenças na dieta e no estilo de vida. Um clássico exemplo está nos japoneses (baixa prevalência) que migram para a América do Norte (alta prevalência) e adotam o estilo de vida e a dieta local

umentando o risco de desenvolver câncer de próstata (TROTTIER *et al.*, 2010). Os fatores de risco também incluem a idade, etnia e o histórico familiar (JONSSON *et al.*, 2004). Em uma visão mais ampla dos mecanismos causadores do câncer de próstata devemos pensar que as variáveis não incluem apenas a dieta, a exposição ambiental, a idade e o polimorfismo do DNA. No entanto, os polimorfismos do DNA incluem milhões de alelos de baixa penetrância que contribuem para a susceptibilidade à doença e que ainda são mal compreendidos (MACOSKA, 2006).

O aumento no número de casos de câncer de próstata trouxe consigo questões relacionadas à melhor maneira de tratar estes casos (INCA, 2009). Seu diagnóstico precoce tem sido de grande valor no que diz respeito ao melhor prognóstico da doença (HEKAL, 2009). Os maiores impulsionadores desta mudança foram o uso do antígeno prostático (PSA), o ultra-som e o toque retal como ferramentas de triagem; a biópsia é aplicada como mecanismo diagnóstico (BORLEY e FENELEY, 2009). No entanto, o tratamento do câncer de próstata é um processo muito complexo. Ele exige uma variedade de condutas disponíveis e envolvimento de muita disciplina. A combinação exata, a dosagem e a intensidade do tratamento continuam a ser fortemente debatidos (PAYNE, 2009). Contudo, o vasto leque de opções de tratamentos disponíveis para os homens com câncer de próstata inclui técnicas invasivas, tais como cirurgia, radioterapia (braquiterapia) e crioterapia; e menos invasivas como a terapia hormonal. Infelizmente, estes tratamentos estão associados a diferentes graus de debilitação fisiológica e efeitos colaterais que podem influenciar negativamente na qualidade de vida do paciente (HEKAL, 2009).

O PSA é uma protease serina, produzida principalmente pelo epitélio prostático e glândulas periuretrais. No sangue, 70% a 90% do PSA circula na forma complexada. A dosagem de PSA é considerada um teste de triagem para o câncer de próstata simples, seguro e amplamente utilizado, mas que não traz nenhum efeito sobre a história natural da doença e não é muito eficiente devido ao fato de sofrer muita influência externa e apresentar um elevado número de falso-positivo (BORLEY e FENELEY, 2009). HEKAL *et al.* (2009), recomendam o uso do PSA com menor ponto de corte (menor valor em ng/mL) a fim de detectar o câncer de próstata com maior frequência na fase curável.

O toque retal continua a ser o principal teste para avaliação clínica inicial da próstata, junto com o PSA. Esse teste tem a vantagem de detectar tumores que não

alteram o PSA (BORLEY e FENELEY, 2009), uma vez que há uma prevalência de até 27% de tumores em pacientes com PSA abaixo de 4 ng/mL (BARONI, 2009). Entretanto, o toque retal apresenta pouca reprodutibilidade, detectando o câncer num estágio patológico mais avançado, fazendo com que 75% dos homens diagnosticados com câncer através deste exame acabem morrendo por causa dessa doença (BORLEY e FENELEY, 2009).

A modalidade mais comum de diagnóstico do câncer de próstata atualmente é a ultra-sonografia transretal – TRUS. Apesar de não ser recomendada para a detecção na fase inicial do câncer, pode, no entanto, identificar cistos, abscessos e calcificações no interior da próstata e ser usado para determinar seu volume. A sua importância maior está no fato de que suas imagens direcionam a agulha para biópsia em locais específicos da próstata. O TRUS é uma ferramenta que auxilia na biópsia e é capaz de detectar até 15% mais cânceres (BORLEY e FENELEY, 2009).

A maioria dos homens com câncer de próstata local e avançado enfrenta um risco significativo de progressão da doença. Especialmente os que apresentam características desfavoráveis como PSA  $\geq 20$  ng/mL e Gleason  $\geq 8$  (PAYNE, 2009). A escala Gleason mede o padrão modificação celular, e serve para informar sobre a provável taxa de crescimento do tumor e sua tendência à disseminação. É classificado em uma contagem partindo do 1 (menos agressivo) a 5 (mais agressivo). Os dois padrões de Gleason mais comuns são adicionados para dar um escore total de 2 = (1+1) a 10 = (5+5) (BRASIL, 2002 e ACTIVA, 2009).

Um tipo de tratamento muito utilizado é a hormônioterapia, que pode ser realizada de duas formas: rompendo o fornecimento de testosterona endógena por castração de base, chamado de orquiectomia bilateral ou através de injeções de hormônio agonistas que agem suprimindo a produção de testosterona a partir dos testículos (PAYNE, 2009). Contudo, ensaios clínicos demonstram a tendência de aumento de sobrevida dos pacientes com câncer de próstata submetido a tratamentos convencionais (prostatectomia, radioterapia ou vigilância de espera) acrescidos do uso de antiandrógeno como a bicalutamida (McLEOD *et al.*, 2005).

A segmentação e modulação de marcadores moleculares identificados em lesões precursoras do câncer de próstata, como neoplasias intraepiteliais prostáticas (PIN) e atrofia inflamatórias proliferativas (PIA), oferecem grande potencial para a quimioprevenção (AGRAWAL *et al.*, 2009).

Os avanços da genética e biologia molecular e a introdução de novas técnicas nesta área começam a permitir fazer um diagnóstico molecular com identificação precoce do risco para desenvolver o câncer de próstata, assim como já existe com o câncer de mama as mutações BRCA1 fornecendo um risco de desenvolver câncer de 60 a 85 % durante a vida e o BRCA2 com risco de 30 a 45% (TURNPENNY, e ELLARD, 2009). Estes avanços na ciência são de grande importância, quando se tratam de identificar mutações em genes implicados na proliferação celular tal como a E-caderina. Atualmente já existe no mercado um marcador tumoral para câncer de próstata proveniente de estudos com o gene PCA3. O marcador urinário uPM3 detecta mRNA não codante derivado do gene que se encontra altamente expresso em tecido neoplásicos de próstata. O mRNA é extraído de células excretadas na urina e medido em uma amostra recolhida após um minucioso exame de toque retal. Apesar do incomodo causado na realização do exame, o uPM3 oferece superior especificidade e acurácia em comparação com o PSA total e PSA livre (HESSELS e SCHALKEN, 2009).

Atualmente, estão sendo realizados ensaios clínicos com vacinas gênicas baseadas em marcadores identificados (AGRAWAL *et al.*, 2009).

Tratamentos alternativos para o câncer de próstata tem sido tema de muita discussão no meio científico. HEKAL 2009 aponta uma série de evidências sugerindo que os exercícios físicos podem trazer benefícios para os homens com câncer de próstata de baixo grau, pelo declínio nos níveis de PSA, inibição de células tumorais e redução dos eventos clínicos. Mas, uma vez que os exercícios não foram estudados como única intervenção, os resultados não podem ser atribuídos aos exercícios isoladamente. Sabe-se que o exercício influencia em inúmeras vias moleculares envolvidas na patogênese do câncer de próstata. Ele pode contribuir para a redução da disfunção erétil pós-prostatectomia pela modulação dos mecanismos moleculares responsáveis pela ereção peniana, especialmente o óxido nítrico. O óxido nítrico ativa a adenilato ciclase em células do músculo liso do pênis, causando a conversão de GTP em GMP cíclico com ativação da proteína Kinase G e aceleração do fluxo de cálcio e potássio proveniente das células musculares lisas, resultando em dilatação vascular e aumento do fluxo de sanguíneo no pênis.

Segundo LEUNG *et al.* (2004), o exercício pode inibir as células do câncer de próstata, aumentam o teor de p53 que tem ação de controle do ciclo celular, reparo

do DNA e início da apoptose na presença de mutações no genoma. O exercício aeróbico diminui os níveis séricos de vários metabólicos e hormônios esteróides sexuais que agem no estímulo ao câncer de próstata, incluindo o fator de crescimento insulina dependente (IGF-1), insulina de jejum, leptina e testosterona, além de melhorar a função imune inata em adição a redução de sistemas inflamatórios (HEKAL, 2009).

Além dos exercícios existe a terapia focal, uma técnica que permite retirar uma região neoplásica conhecida da próstata, mantendo o parênquima não-maligno intacto. Em muitos casos, o parênquima preservado é um tecido adjacente aos feixes neurovasculares, que permitem a preservação da função erétil e continência urinária (MOURAVIEV *et al.*, 2009), uma vez que essas são as principais queixas dos pacientes acometidos com o câncer de próstata e que estão submetidos aos tratamentos convencionais.

### 3. METODOLOGIA

As amostras de sangue periférico foram colhidas de 102 homens, diagnosticados com câncer da próstata, no centro de oncologia ONCOMED em Vitória da Conquista, na clínica ONCOSUL em Itabuna e na clínica oncológica de Ilhéus –CLIONI, de maneira aleatória, alternando-se dias de coleta de dados e amostras, por um período de um ano e 6 meses. As clínicas ONCOMED, ONCOSUL e CLIONI atendem não somente pacientes particulares, mas também SUS, uma vez que são centros de referência, e prestam serviços às prefeituras dos municípios, realizando tratamento e acompanhamento de pacientes com câncer. As amostras de sangue controle foram obtidas de 226 controles, dos quais foram usados somente 109. O critério adotado para inclusão nos controles foi selecionar os indivíduos sem histórico de câncer na família com parentesco de até 2º grau e que apresentavam PSA abaixo de 3 ng/mL. Estas coletas ocorreram nos laboratórios MASTERLAB em Itapetinga, LABO em Vitória da Conquista, LAP e LAPEC em Itabuna. Além disso, foram realizadas três campanhas públicas nas cidades de Itabuna e Ilhéus em dias alternados, com a finalidade de conscientização e prevenção ao câncer, fornecendo exames de PSA gratuito e aproveitando para convidar pessoas a aderirem como voluntários nesta pesquisa bem como para explicá-la.

A coleta dos dados epidemiológicos e biológicos foi obtida conforme TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) aprovado pelo comitê de ética da UESC sob o número 358. Cinco mililitros de sangue periférico foram obtidos de uma única punção e separados em dois tubos a vácuo, sendo que um deles continha anti-coagulante EDTA em seu interior. A amostra de sangue do tubo seco (sem EDTA) foi utilizado nos respectivos laboratórios para realização da dosagem de PSA total e o tubo contendo EDTA foi levado ao Laboratório de Farmacogenômica e

Epidemiologia Molecular da UESC para extração de DNA. O EDTA foi usado para impedir a coagulação do sangue no interior dos tubos, facilitando assim as extrações do DNA que não ocorreram nos mesmos dias das coletas. Essa extração foi realizada de acordo com as especificações do kit de extração FlexiGene da Qiagen e o DNA foi quantificado no aparelho Gene-Quant.

Um fragmento de DNA de 417 pb, contendo o SNP G/GA na posição -347 e outro fragmento de 231 pb, contendo o SNP C/A na posição -160, relativamente ao local de início da transcrição na região do promotor do gene da E-caderina, foi amplificado por PCR alelo específico, utilizando os seguintes primers: forward 5'-CAGCTTGGGTGAAAGAGTGAGC-3' para o alelo selvagem e forward 5'-CAGCTTGGGTGAAAGAGTGAGA-3' para o alelo mutante na posição -347; forward 5'-CAACTCCAGGCTAGAGGGTCAAC-3' para o alelo selvagem e forward 5'-CAACTCCAGGCTAGAGGGTCAA-3' para o alelo mutante na posição -160; reverse 3'-CTCGAACGCCTTCAGTCAAGT-5' foi o mesmo para os dois SNPs. Para cada amostra de DNA foram realizadas quatro reações PCR utilizando-se as combinações de primers forward 5' e reverse. O primer forward utilizado na amplificação do alelo mutado, continha na sua extremidade 3' a base complementar ao SNP. Todos os primers foram desenhados e testados a partir da sequência encontrada no NCBI.

Os primers foram testados quanto a temperatura média de anelamento e as chances de ocorrer anelamentos inespecíficos podendo formar dímeros de primers indesejados.

O volume final de reação foi de 20 µL contendo 30 ng de DNA, 10 pmol de cada primer, 2,5 nmol/L de dNTP's e 1U de taq polimerase. O protocolo utilizado na reação de PCR visando detectar o SNP -160 C/A consistiu de um passo a 95 °C durante 5 min, seguido de 38 ciclos de 95 °C durante 15 s, 56 °C durante 15 s e 72 °C durante 20 s, seguido de um passo final de alongação de 72 °C durante 2 min. O protocolo de reação para o SNP - 347 G/GA sofreu algumas alterações apenas nas etapas dos ciclos de amplificação em função do fragmento possuir um maior comprimento. Os 38 ciclos foram de 95 °C durante 20 s, 63 °C durante 40 s e 72 °C durante 30 s. Os fragmentos foram separados em gel de agarose 1,5% numa cuba de eletroforese a 95 volts e comparados ao marcador de peso molecular a fim se confirmar o tamanho esperado do fragmento.

A significância da distribuição genotípica nos dois grupos (controle e caso), foi calculada usando o teste de  $\chi^2$  com 2 graus de liberdade, utilizando o software

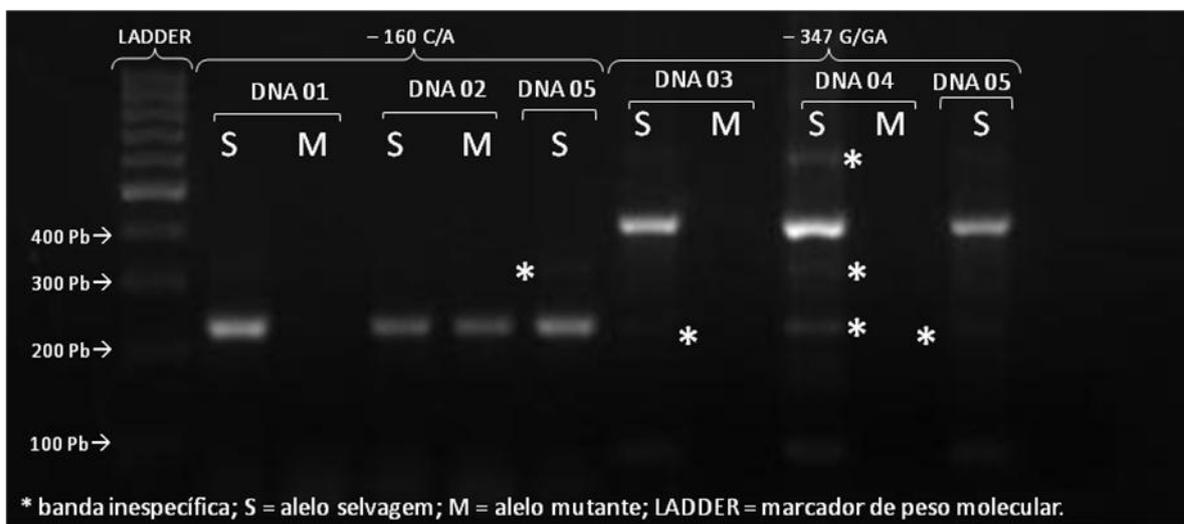
SPSS, versão 10.0. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . O risco específico ligado ao genótipo foi estimado utilizando o *odds ratios*, com limite de confiança 95%. As frequências genóticas dos dois SNPs foram testadas quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, utilizando-se  $\chi^2$  ( $\alpha = 0,05$ ,  $gl = 2$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Análises Moleculares

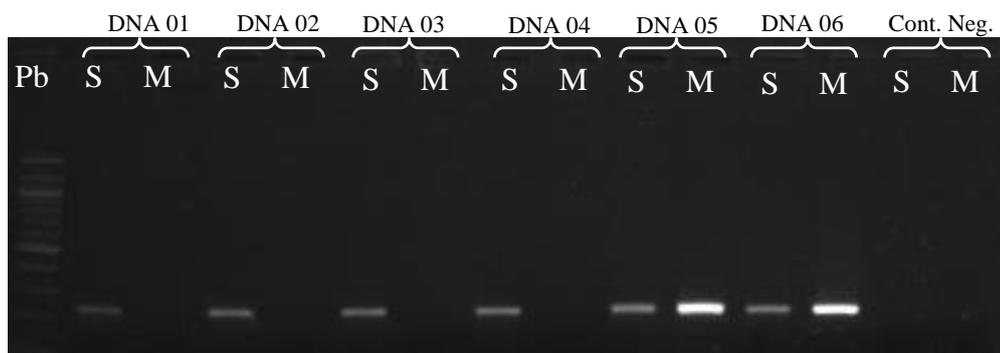
As primeiras reações de PCR testando os primers falharam ou geraram aparecimento de um grande número de bandas inespecíficas como mostra a figura 1.

**Figura 1:** Reação teste de primers



Após ajustes elevando o tempo de extensão e a temperatura de anelamento, as bandas inespecíficas deixaram de existir (figura 2). Para isso os programas foram separados especificado o SNP a ser genotipado. Como a Taq polimerase apresenta função de exonuclease, o indivíduo foi genotipado separadamente para o alelo selvagem e mutante conforma mostra o géis das figuras 1 e 2.

**Figura 2:** Reação de PCR ajustada para o SNP – 160 C/A



Legenda: S = alelo selvagem; M = alelo mutante; Pb = marcador de peso molecular; Cont. Neg.= controle negativo.

A reação de PCR só foi realizada com o DNA dos voluntários sadios que se encontravam dentro dos critérios estabelecidos para os controles.

#### 4.2. Análises Estatísticas

A média de idade entre os casos e controles foi de 73,65 e 56,31 respectivamente. Essa diferença se mostrou estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ , teste *t* Student) com apresentado na tabela 2. No entanto, mesmo se mostrado distinta, a média dos controles permaneceu dentro da faixa de risco considerado para o câncer de próstata que é acima dos 50 anos.

Com exceção dos genótipos para o SNP – 347 G/GA do grupo caso, os demais genótipos apresentaram-se em desequilíbrio de Hardy-Weinberg. Uma vez que foi usado um critério de inclusão restringindo o grupo controle, mesmo que de caráter fenotípico, reduziu-se a aleatoriedade da amostragem, aumentando-se as chances ocorrência de desequilíbrio.

**Tabela 2:** Característica descritiva do câncer de próstata nos casos e controles e o risco para o câncer de próstata associado com o consumo de tabaco e álcool.

Variáveis	Casos (n= 112)	Controles (n= 109)	OR (IC 95)	p
Idade (Média± DP)	73,65	56,31		< 0,01
Cor da Pele n (%)				
Eurodescendentes	27 (26)	36 (33,3)		0,24
Não Eurodescendentes	77 (74)	72 (66,7)		
Etilismo n (%)				

Nunca	23 (22,1)	27 (25)	Ref.	
Sempre	81 (77,9)	81 (75)	1,17 (0,62 - 2,21)	0,62
Tabagismo n (%)				
Nunca	26 (27,4)	51 (47,2)	Ref.	
Sempre	69 (72,6)	57 (52,8)	2,37 (1,31 - 4,27)	<b>0,004</b>

Entre as variáveis analisadas na tabela acima, apenas o tabagismo apresentou risco para o desenvolvimento do câncer de próstata ( $p = 0,004$ ), como é de se esperar uma vez que hábito de fumar tem relação direta em uma série de carcinomas. Este resultado é compatível com o trabalho de PLASKON *et al.* (2003) que encontraram risco moderadamente aumentado para os fumantes (OR = 1.4, 95% IC 1.0 – 2.0) em relação aos não fumantes.

As variáveis contidas na tabela 2 usaram como critério: a auto declaração para a cor da pele, o tempo e a frequência de exposição para o etilismo e tabagismo. O sempre tabagista é considerado aquele que fuma ou fumou pelo menos um cigarro por dia no período mínimo de 1 ano e o sempre etilista é considerado aquele que bebe ou bebeu pelo menos duas vezes por semana no período mínimo de a ano. Estes mesmos critérios foram utilizados por ROSSINI *et al.* (2007), com estudos de polimorfismos de GSTP1 e GSTT1 alterando o risco para câncer de esôfago.

Nas análises do SNP -347 G/GA do gene da E-caderina, verificou-se que o genótipo heterozigoto foi mais frequente entre os casos comparado aos controles (33,3 vs 18,5) respectivamente (Tabela 3). Esse genótipo apresentou-se como fator de risco para o câncer de próstata, elevando em 2,28 vezes o risco em relação ao genótipo selvagem. Aplicando-se o modelo dominante, que assume a hipótese na qual basta o indivíduo carregar uma única cópia do alelo mutante para que ele tenha um risco aumentado da doença em relação ao homozigoto selvagem (modelo muito usado quando a frequência do genótipo homozigoto mutante é baixa), percebeu-se que os indivíduos portadores de pelo menos uma cópia do alelo mutante também apresentaram um risco significativamente maior (OR = 1,70, IC 1,03 – 3,08,  $p = 0,038$ ). No entanto, ao aplicar o modelo multiplicativo, o alelo mutante não apresentou risco significativamente maior que o alelo selvagem (OR = 1,38, IC 0,9 – 2,1,  $p = 0,135$ ). Em trabalho semelhante com a E-caderina associada ao risco de desenvolver o câncer de ovário, LI *et al.* 2007 não encontrou diferença significativa entre os SNPs -160 C/A e – 347 G/GA e o risco de desenvolver a doença.

KIEMENEY *et al.* 2006 estudou os mesmos dois polimorfismos associados ao risco de câncer de bexiga e também não encontrou associação significativa para o SNP -347 G/GA. No entanto, ZOU *et al.* 2009, em seus estudos com populações chinesas, encontrou a frequência de GA significativamente elevada nos casos em relação aos controles ( $p = 0,019$ ).

**Tabela 3:** Frequência genotípica e alélica, do polimorfismo -347 G/GA no promotor do gene de E-caderina.

Genótipo	Casos n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95)	<i>p</i>
GG	56 (51,9)	71 (65,7)	Ref.	
G/GA	36 (33,3)	20 (18,5)	2,28 (1,9 - 4,36)	<b>0,012</b>
GA/GA	16 (14,8)	17 (15,7)	1,19 (0,55 - 2,57)	0,652
GA/GA ou G/GA	52 (48,1)	37 (34,3)	1,78 (1,03 - 3,08)	<b>0,038</b>
G	148 (68,5)	162 (75)	Ref.	
GA	68 (31,5)	54 (25)	1,38 (0,9 - 2,1)	0,135

O alelo mutante SNP -160 C/A não apresentou diferença significativa na sua frequência entre casos e controles (Tabela 4). Contudo, o genótipo heterozigoto foi mais frequente entre os casos comparando com os controles (55 vs 40,7) respectivamente. Dados semelhantes foram encontrados por JONSSON *et al.* 2004 sobre a influência do polimorfismo -160 C/A no risco de câncer de próstata entre homens com e sem histórico familiar não observou nenhuma diferença significativa entre os esses dois grupos. Porém, entre o grupo afetado com câncer de próstata hereditário ocorreu uma maior proporção de heterozigotos e homozigotos A em comparação com o grupo controle.

**Tabela 4:** Frequência genotípica, do polimorfismo -160 C/A no promotor do gene de E-caderina.

Genótipo	Casos n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95)	<i>P</i>
CC	47(42,3)	64(59,3)	Ref.	-
CA	61(55,0)	44(40,7)	1,88 (1,1 - 3,24)	<b>0,021</b>
AA	3((2,7)	0(0,0)	-	0,082*
AA ou CA	64(57,7)	44(40,7)	1,98 (1,15 - 3,39)	<b>0,012</b>

\* Teste exato de Fisher.

O genótipo heterozigoto CA, apresentou-se como fator de risco para o câncer de próstata elevando em 1,88 vezes o risco em relação ao genótipo selvagem. Não foi encontrada diferença significativa na frequência do genótipo mutante entre os grupos casos e controles. Isso fato pode ser explicado pela baixa frequência

encontrada na população amostral. Ao usar o modelo dominante, observou-se que indivíduos contendo apenas uma cópia do alelo mutante tiveram um maior risco (OR = 1,98, IC 1,15 – 3,39,  $p = 0,12$ ). KAMOTO *et al.* (2005), em seus estudos de associação do polimorfismo -160 C/A do gene de E-caderina em população japonesa encontrou diferenças estatisticamente significativas entre pacientes com câncer de próstata invasivo e os controles (Indivíduos com hiperplasia benigna da próstata) quanto a presença do alelo A, o que sugere a possibilidade deste alelo resultar no aumento do risco de progressão do câncer de próstata.

VERHAGE *et al.* 2002, em seus estudos com holandeses, encontrou uma frequência maior do alelo A em relação ao alelo C, do polimorfismo – 160 C/A do gene da E-caderina, em homens com câncer de próstata avançado em relação aos homens com câncer de próstata não avançado. O mesmo ocorreu com WANG *et al.* (2008), em seu estudo de meta-análise envolvendo a associação do polimorfismo – 160C/A da E-caderina e a susceptibilidade para sete diferentes tipos de câncer, encontrou o alelo A relacionado ao aumento significativo de desenvolver o câncer de próstata tanto para populações asiáticas quanto para europeus.

Apesar de grande número de trabalhos relacionando de forma significativa a presença do alelo mutante -347 G/GA a risco de desenvolver variados tipos de câncer, os trabalhos de HAJDINJAK e TOPLAK (2004) com a população Eslovênia não mostraram risco relativo ao alelo A do polimorfismo – 160 C/A da E-caderina e o câncer de próstata nem a sua influência na magnitude da doença. Apesar de não terem usado a história familiar em suas análises, acredita-se que isso não afeta a validade dos resultados pois VERHAGE *et al.* (2002) avaliou esse aspecto e não encontrou diferença nas frequências desse polimorfismo ocorrido entre os pacientes com câncer de próstata esporádico e câncer de próstata familiar.

Nenhum genótipo dos dois polimorfismos estudados, apresentou risco significativo para o aumento da escala Gleason. Diversas explicações podem surgir desta observação. Entre elas, uma plausível seria a de que os tratamentos oferecidos aos pacientes com esta patologia estariam agindo no estadiamento (não crescimento) do tumor o que resultaria na manutenção do grau de diferenciação das células tumorais e a não elevação da escala Gleason. Porém, GOTO *et al.* (2007) trabalhando no polimorfismo – 160 C/A da E-caderina, encontrou a presença do alelo A significativamente associada ao aumento no risco de ocorrência do câncer

de próstata, contudo não encontraram nenhuma associação entre o SNP e a escala Gleason.

**Tabela 5:** Relação entre genótipos dos SNPs –160 C/A e –347 G/GA com a escala Gleason.

SNP	Genótipos	Gleason		OR (IC 95)	p
		6 a 10 (%)	1 a 5 (%)		
- 160 C/A	CC	14 (41,2)	29 (42,6)	Ref.	0,53
	AA ou CA	20 (58,8)	39 (57,4)	1,06 (0,46 - 2,45)	
- 347 G/GA	GG	16 (47,1)	36 (55,4)	1,39 (0,61 - 3,21)	0,282
	GA/GA ou G/GA	18 (52,9)	29 (44,6)		

**Tabela 6:** Relação entre genótipos dos SNPs –160 C/A e –347 G/GA com o nível de PSA.

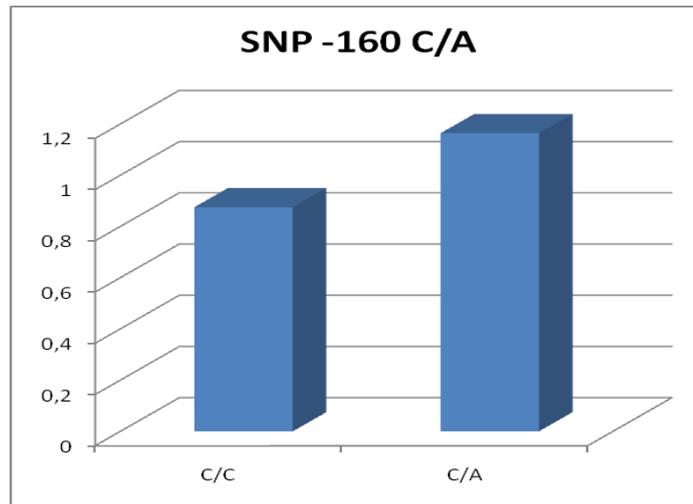
SNP	Genótipos	N	PSA Médio	p*
160 C/A	CC	64	1,08	0,5
	AA ou CA	43	1,05	
347 G/GA	GG	70	1,04	0,79
	GA/GA ou G/GA	37	1,14	

\* Teste U de Mann-Whitney

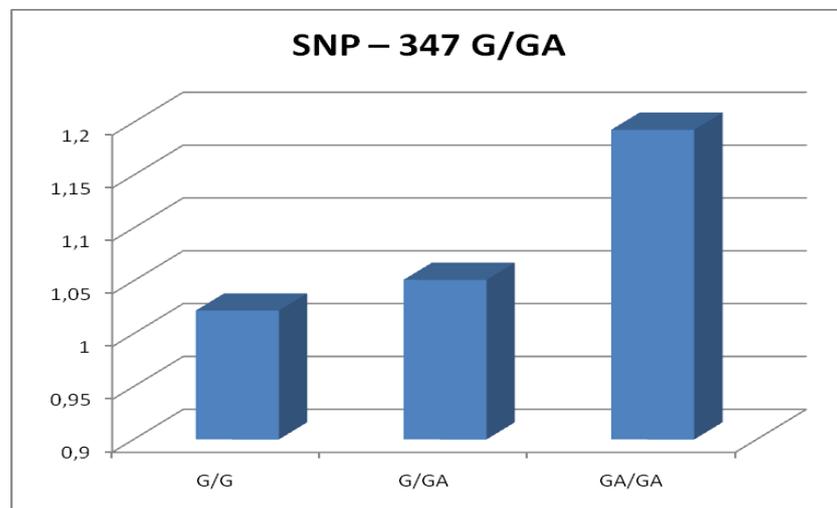
Para analisar as médias de PSA de acordo com o genótipo, foi utilizado o teste não paramétrico chamado teste U de Mann-Whitney a fim de se evitar que os valores extremos distorcessem as médias. Este teste foi realizado após o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, onde foi observado que os níveis de PSA não seguiam uma distribuição normal. Comparando os níveis de PSA entre casos e controles, também não houve diferença significativa ( $p = 0,28$ ). Esse fato também é justificado porque os pacientes atendidos nas clínicas oncológicas estavam submetidos a tratamentos do tipo: quimioterapia, radioterapia ou hormônioterapia acrescido do fato de que a maior parte deles eram prostatectomizados (isto é, haviam retirado a próstata). Todas as medidas citadas imprimem influência sobre o nível de PSA. O teste da tabela 6, foi realizado novamente apenas com as amostras do grupo controle para -160 C/A com  $p = 0,150$  e -347 G/GA com  $p = 0,79$ . O “p” valor, evidenciou que mesmo entre os indivíduos que não estão sob efeito de

nenhum tratamento, o nível de PSA sofre um pequeno aumento em função dos genótipos que não é estatisticamente significativo (gráfico 1 e 2).

**Gráfico 1:** Associação em o nível de PSA e o genótipo – 160 C/A



**Gráfico 2:** Associação em o nível de PSA e o genótipo – 347 C/A



Há de se lembrar que o grupos controle genotipado apresenta nível de PSA abaixo de 3 ng/mL e esse fator limitante pode estar influenciando para que a associação não seja estatisticamente significativa. Para solucionar este problema, seria necessário a genotipagem dos outros indivíduos sadios que não estão incluídos como grupo controle.

Apesar de existência de vários trabalhos científicos encontrando associações do SNP -160 C/A e -347 G/GA com cânceres variados, um trabalho em especial chamou a atenção pela sua diferença de resultados. POOKOT *et al.* (2006), em seu trabalho de polimorfismo – 160 C/A da E-caderina, com brancos e negros Norte Americanos, encontrou uma contradição entre as duas etnias. Na população branca a frequência do alelo A foi maior nos pacientes com câncer de próstata em relação aos controles. Já na população negra este quadro se inverteu e a presença do alelo A foi associada a uma diminuição de 2,4 vezes o risco para o câncer de próstata, concluindo que o alelo A é fator de risco para homens com ascendência caucasiana e fator de proteção para homens com ascendência africana. Neste trabalho não realizamos associação entre os genótipos e a etnia pelo fato da população estudada ser muito miscigenada e os critérios usados basearam-se na auto declaração e não em marcadores de ancestralidade.

Segundo LI *et al.* (2000), NAKAMURA *et al.* (2002) e LEI *et al.* (2002), o polimorfismo – 160C/A da E-caderina, reduz de 10 a 68% a eficiência transcricional do gene e segundo SHIN *et al.* 2004 a mutação -347 G → GA do mesmo gene diminui em 10 vezes a expressão do mesmo. Em um segundo artigo, SHIN *et al.* 2004, testou a hipótese do polimorfismo -347 G → GA afetar a atividade de ligação aos fatores de transcrição e verificou que as proteínas se ligam mais fortemente ao alelo G em comparação ao GA além de verificar um risco aumentado do heterozigoto G/GA e homozigoto GA para o câncer gástrico. Em nosso trabalho, mesmo não realizando teste de nível de expressão gênica, o heterozigoto GA do polimorfismo – 347 G/GA também esteve mais presente nos casos sugerindo risco aumentado (OR= 2,28) para o câncer de próstata.

Os SNPs – 160 C/A e – 347 G/GA estão separados por 187 bases e existe um provável desequilíbrio de ligação entre o alelo – 160 A e – 347 G, o que diminui bastante as chances de um indivíduo apresentar-se homozigoto para as duas mutações (kiemeney, *et al.* 2006). Como a distância entre os dois SNPs é muito pequena, as chances de ocorrer uma recombinação é mínima.

O polimorfismo – 160 C/A do gene da E-caderina está envolvido em outros tipos de câncer como o mostra o trabalho de MA *et al.* (2008) com células carcinogênicas da bexiga, onde a frequência do alelo A foi bem maior no carcinoma de bexiga (OR = 3,47) em relação aos controles. Mesmo assim este polimorfismo

apresenta forte relação com o câncer de próstata como confirmado também neste trabalho.

A aparente contradição encontrada por POOKOT *et. al.* 2006 revela o que nós não sabemos sobre a susceptibilidade genética no contexto variação genética e biológica humana. É provável que exista uma série de variáveis interagindo e com potencial co-dependência e que sejam responsáveis por determinar o risco de vida individual para o câncer de próstata (MACOSKA, 2006).

Novos meios de identificar indivíduos de risco, estratégias para descoberta precoce da doença e cuidados preventivos são medidas urgentes (KAMOTO *et. al.* 2005).

Este trabalho representa um desafio no que diz respeito a tentativa de se gerar dados que possam ser úteis para a criação de prognóstico molecular para o câncer de próstata, no qual se possa estimar a porcentagem de risco de desenvolver a doença, assim como acontece atualmente com o câncer de mama.

## 5. CONCLUSÕES

A caracterização dos polimorfismos do gene de E-caderina possibilita identificar homens com alto risco para o câncer de próstata explicitar esses polimorfismos como marcadores para determinar o significado clínico da doença.

A identificação de fatores de risco genético para o câncer de próstata contribuirá para detecção precoce, permitirá uma quimioprevenção seletiva e fornecerá uma visão mais clara da doença.

Na população do Sul da Bahia, os heterozigotos para as duas mutação se apresentaram com maior frequência estatisticamente significativa em relação aos casos, indicando risco aumentado para a presença da mutação.

Uma perspectiva desse trabalho é genotipar o polimorfismo **3'-UTR +54 C/T do gene da E-caderina**, o qual poderá revelar-se complementar à elucidação de mecanismos genéticos e moleculares envolvidos no câncer de próstata, através da técnica de PCR em tempo real, o que trará maior confiabilidade a pesquisa além de melhorar as chances de publicação.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACTIVA. **Cancer de próstata**. Disponível em : < <http://www.activa.com.br>>. acesso em: 19/01/2009.

AGALLIU, I.; GERN, R.; LEANZA, S.; BURK, R. D. Associations of High-Grade Prostate Cancer with BRCA1 and BRCA2 Founder Mutations. **Clin Cancer Res** 15(3): 1112-1120, 2009.

AGRAWAL, S.; PATIL, K. P.; DUNSMUIR, W. D. Molecular markers in prostate cancer. Part II: potential roles in management. **Asian Journal of Andrology** 11: 22–27, 2009.

BALASUBRAMANIAN, S. P.; COX, A.; BROWN, N. J.; REED, M. W. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. **EJSO** 30: 593-601, 2004.

BARONI, R. H. Magnetic resonance imaging and prostate cancer: a brief timeline. **Radiol Bras**, 42(1):V–VII, 2009.

BERX, G.; VAN ROY, F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. **Breast Cancer Research**, v. 3, p. 289-293, 2001.

BORLEY, N., FENELEY, M. R. Prostate cancer: diagnosis and staging. **Asian Journal of Andrology**. 11: 74–80, 2009.

BRASIL. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2009.

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/>>. Acesso em: 11 dez 2009.

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=322](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322)>. Acesso em: 03 fev. 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. ***Programa nacional do controle de câncer da próstata: documento de consenso***, p. 13-15 Rio de Janeiro: 2002.

BRUNETTI, B.; SARLI, G.; PREZIOSI, R.; MONARI, I.; BENAZZI, C. E-cadherin and  $\beta$ -catenin reduction influence invasion but not proliferation and survival in canine malignant mammary tumors. ***Veterinary Pathology***, v. 42, p. 781-787, 2005.

BUSSEMAKERS, M. J.; Van MOORSELAAR, R. J.; GIROLDI, L. A. Decreased expression of E-cadherin in the progression of rat prostatic cancer. ***Cancer Res*** 52: 2916-2922, 1992.

CATTANEO, R.; MIEST, T.; SHASHKOVA, E. V.; BARRY, M. A. Reprogrammed viruses as cancer therapeutics: targeted, armed and shielded. ***Nature Reviews Microbiology***. 6, 529-540, 2008.

CHAN, A. O. E-cadherin in gastric cancer. ***World J Gastroenterol*** 12: 199–203, 2006.

CHENG L.; NAGABHUSHAN M.; PRETLOW T. P.; AMINI S. B.; PRETLOW T. G. Expression of E-cadherin in primary and metastatic prostate cancer. ***Am J Pathol*** 148: 1375–80, 1996.

CLARKE, N. W., HART, C. A., BROWN, M. D. Molecular mechanisms of metastasis in prostate cancer. ***Asian Journal of Andrology***. 11: 57–67, 2009.

CLARKE, N. W.; HART, C. A.; BROWN, M. D. Molecular mechanisms of metastasis in prostate cancer. **Asian Journal of Andrology**. 11: 57–67, 2009.

COUGHLIN, S. S.; HALL, H. L. A review of genetic polymorphisms and prostate cancer risk. **Annals of Epidemiology** 12: 182-196, 2002.

COWIN, P.; ROWLANDS T.M.; HATSELL, S.J. Cadherins and catenins in breast cancer. **Current opinion in cell biology**. v. 17, p. 499-508, 2005.

Di PIETRO, G.; MAGNO, L. A. V.; SANTOS, F. R. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol** 6(2): 153 – 170, 2010.

DONG, L. M.; POTTER, J. D.; WHITE, E. Genetic Susceptibility to Cancer: The Role of Polymorphisms in Candidate Genes. **JAMA** 299(20): 2423-2436, 2008.

DUNSMUIR, W. D.; GILLETT, C. E.; MEYER, L. C.; YOUNG, M. P.; CORBISHLEY, C.; EELES, R. A. Molecular markers for predicting prostate cancer stage and survival. **BJU International** 86: 869 –78, 2000.

FIORENTINO, M.; ZADRA, G.; PALESCANDOLO, E.; FEDELE, G.; BAILEY, D.; FIORE, C.; NGUYEN, P. L.; MIGITA, T.; ZAMPONI, R.; Di VIZIO, D.; PRIOLO, C.; SHARMA, C.; XIE, W.; HEMLER, M. E.; MUCCI, L.; GIOVANNUCCI, E.; FINN, S.; LODA, M. Overexpression of fatty acid synthase is associated with palmitoylation of Wnt1 and cytoplasmic stabilization of  $\beta$ -catenin in prostate cancer. **Laboratory Investigation** 88: 1340–1348, 2008.

GARCIA, M.; JEMAL, A.; WARD, E. M.; CENTER, M. M.; HAO, Y.; SIEGEL, R. L.; THUN, M. J. **Global Cancer Facts**. American Cancer Society, 2007.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia**. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

GIRÃO, C.; GIRÃO, H.; CORTES, L.; FARO, C.. Polimorfismo -160 C/A no Promotor do Gene da E-caderina e Risco de Cancro da Próstata numa População Portuguesa. **Acta Urológica**. V. 22, p 1: 27-42, 2005.

GIROLDI, L. A.; BRINGUIER, P. P.; WEIJERT, M.; JANSEN, C.; Van BOKHOVEN, A.; SCHALKEN, J. A. Role of E boxes in the repression of E-cadherin expression. **Biochem. Biophys. Res. Commun** 241: 453-458, 1997.

GOTO, T.; NAKANO, M.; ITO, S.; EHARA, H.; YAMAMOTO, N.; DEGUCHI, T. Significance of an E-cadherin Gene Promoter Polymorphism for Risk and Disease Severity of Prostate Cancer in a Japanese Population. **J. Urology** 70(1): 127-130, 2007.

GRANGEIRO, J. P. A.; RIBEIRO, E. M. Genética do câncer de próstata. Associação cearense de doenças genéticas. [série online] 2004 [citado 2008 nov. 18]. Disponível em: URL: <http://www.genetica.org.br/modules/wfsection/article.php?articleid=16>

GRÖNBERG, H. Prostate cancer epidemiology. **The Lancet** 361: 859–364, 2003.

GRUNWALD, G. B. The structural and functional analysis of cadherin calcium-dependent cell adhesion molecules. **Curr Opin Cell Biol** 5:797– 805, 1993.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HAJDINJAK, T.; TOPLAK, N. E-Cadherin Polymorphism \_160 C/A and Prostate Cancer. **Int. J. Cancer** 109: 480–481, 2004.

HARLEY, C. B. Telomerase and cancer therapeutics. **Nature Reviews Cancer**. 8, 167-179, 2008.

HATSELL, R.; ROWLANDS, T.R.; HIREMATH, M.; COWIN, P. The role of  $\beta$ -catenin and Tcfs in mammary development and neoplasia. **Journal of Mammary Gland Biology and Cancer**, v. 8, p. 143-156, 2003.

HEKAL, IA. The patients less than 50 years: is there a need to lower the PSA cutoff point? **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**. 12, 148-151, 2009.

HESSELS, D. and SCHALKEN, J A., The use of PCA3 in the diagnosis of prostate cancer. **Nature Reviews: Urology** 6, 255–261, 2009.

JONSSON, B. A.; ADAMI, H. O.; HÄGGLUND, M.; BERGH, A.; GÖRANSSON, Ingela.; STATTIN, P.; WIKLUND, F.; GRÖNBERG, H. -160 c/a polymorphism in the *e-cadherin* gene promoter and risk of hereditary, familial and sporadic prostate cancer. **Int. J. Cancer**. 109, 348–352, 2004.

JORDE, L. B.; CAREY, J. C.; BAMSHAD, M. J.; WHITE, R. L. **Genética Médica**. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

KAMOTO, T.; ISOGAWA, Y.; SHIMIZU, Y.; MINAMIGUCHI, S.; KINOSHITA, H.; KAKEHI, Y.; MITSUMORI, K.; YAMAMOTO, S.; HABUCHI, T.; KATO, T.; OGAWA, O. Association of a Genetic Polymorphism of the E-cadherin Gene with Prostate Cancer in a Japanese Population. **Jpn J Clin Oncol** 35(3): 158–161, 2005.

KARLSSON, C. T.; LINDSTRÖM, S.; MALMER, B.; WIKLUND, F.; BÄLTER, K. A.; ADAMI, H. O.; STATTIN, P.; NILSSON, M.; WRIGHT, K. D.; GUSTAFSSON, J. A.; GRÖNBERG, H. Estrogen Receptor  $\beta$  Polymorphism Is Associated with Prostate Cancer Risk **Clin Cancer Res** 12(6): 1936 – 1941, 2006.

KIEMENEY, L. A.; Van HOUWELINGEN, K. P.; BOGAERTS, M.; WITJES, J. A.; SWINKELS, D. W.; Den HEIJERB, M.; FRANKE, B.; SCHALKEN, J. A.; VERHAEGH, G. W. Polymorphisms in the E-cadherin (CDH1) gene promoter and the risk of bladder cancer. **European Journal Of Cancer** 42: 3219 –3227, 2006.

KNUDSEN K.A.; WHEELLOCK, M.J. Cadherins and the mammary gland. **Journal of cellular Biochemistry**, v. 95, p. 488-496, 2005.

LEI, H.; SJOBERG-MARGOLIN, S.; SALAHSHOR, S.; WERELIUS, B.; JANDAKOVA, E.; HEMMINKI, K. CDH1 mutations are present in both ductal and lobular breast cancer, but promoter allelic variants show no detectable breast cancer risk. **Int J Cancer** 98: 199–204, 2002.

LEUNG, P.S.; ARONSON, W.J.; NGO, T.H.; GOLDING, L.A.; BARNARD, R.J. Exercise alters the IGF axis *in vivo* and increases p53 protein in prostate tumor cells *in vitro*. **J Appl Physiol**. 96: 450–454, 2004.

LI, L. C.; CHUI, R. M.; SASAKI, M.; NAKAJIMA, K.; PERINCHERY, G.; AU, H. C. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. **Cancer Res** 60: 873–6, 2000.

LI, Y., LIANG, J., KANG, S., DONG, Z., WANG, N., XING, H., ZHOU, R., LI, X., ZHAO, X. E-cadherin gene polymorphisms and haplotype associated with the occurrence of epithelial ovarian cancer in Chinese. **Gynecologic Oncology** (2007).

LINDSTRÖM, S.; ADAMI, H.O.; ADOLFSSON, J.; WIKLUND, F. Y Chromosome Haplotypes and Prostate Cancer in Sweden **Clin Cancer Res** 14(20): 6712-6716, 2008.

LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, S.L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J. Molecular Cell Biology, 4th ed., **W.H. Freeman and Company**, New York, 1184 pp., 2000.

MA, X.; XU, H.; ZHENG, T.; LI, H.Z.; SHI, T.P.; WANG, B.J.; JU, Z.H.; WANG, C.; ZHANG, G.X.; ZHANG, X. DNA polymorphisms in exon 1 and promoter of the CDH1 gene and relevant risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **BJU International** 102: 633–636, 2008.

MACOSKA, J. A. Ancestry, Genetic Susceptibility, E-Cadherin –160A and Prostate Cancer Risk – Is There an Association? **The Journal of Urology** 176: 435-436, 2006.

MAKRIDAKIS, N. M. Molecular epidemiology of hormonemetabolic loci in prostate cancer. **Epidemiol Rev** 23(1): 24-9, 2001.

McLEOD, D. G.; IVERSEN, P.; SEE, W. A.; MORRIS, T.; ARMSTRONG, J.; WHIRT, M. P. Bicalutamide 150 mg plus standard care vs standard care alone for early prostate cancer. **BJU International**. 97: 247-254, 2005.

MELO, F. H. M. de; JUNQUEIRA, M. S.; CHAMMAS, R. Mecanismos de Invasão e Metástases. In: Maria Mitzi Brentani; Francisco Ricardo Gualda Coelho; Luiz Paulo Kowalski. (Org.). 2 ed. São Paulo: Lemar, 2003, v. 1, p. 201-226.

MOTTA, P. A. **Genética Médica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

MOURAVIEV, V.; MAYES, J. M.; POLASCIK, T. J. Pathologic basis of focal therapy for early-stage prostate cancer. **Nat. Rev. Urology**. 6: 205-215, 2009.

NAKAMURA, A.; SHIMAZAKI, T.; KANEKO, K.; SHIBATA, M.; MATSUMURA, T.; NAGAI, M. Characterization of DNA polymorphisms in the E-cadherin gene (CDH1) promoter region. **Mutation Res** 502: 19–24, 2002.

NAM, R. K.; ZHANG, W. W.; JEWETT, M. A. S.; TRACHTENBERG, J.; KLOTZ, L. H.; EMAMI, M.; SUGAR, L.; SWEET, J.; Ants TOI, A.; NAROD, S. A. The Use of Genetic Markers to Determine Risk for Prostate Cancer at Prostate Biopsy. **Clin Cancer Res** 11(23): 9391-8397, 2005.

OKEGAWA, T.; LI, Y.; PONG, R.C.; HSIEH, J.T. Cell Adhesion Proteins as Tumor Suppressors. **The Journal of Urology** 167: 1836–1843, 2002.

PARMIGIANI, R. B.; CAMARGO, A. A. O genoma Humano e o Câncer. IN: Ferreira, C.G.; Rocha, J.C.C. (Org.). **Oncologia Molecular**. São Paulo: Atheneu, 2004.

PAYNE, H. Management of locally advanced prostate cancer. **Asian Journal of Andrology**. 11: 81–87, 2009.

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.

POLLOCK, R. E.; DOROSHOW, J. H.; KHAYAT, D.; NAKAO, A.; SULIVAN, B. Manual de Oncologia Clínica. **UICC – União Internacional de Oncologia**. Fundação Onconcentro de São Paulo, 2006.

POOKOT, D.; LI, L.C.; TABATABAI, Z. L.; TANAKA, Y.; GREENE, K. L.; DAHIYA, R. The E-Cadherin - 160 C/A Polymorphism and Prostate Cancer Risk in White and Black American Men. **The Journal of Urology** 176: 793-796, 2006.

REINO UNIDO. Cancer Research UK's 'CancerStats – Key Facts'. Disponível em: <<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/>>. Acesso em: 14 dez 2009.

ROSSINI, A.; RAPOZO, D. C. M.; LIMA, S. C. S.; GUIMARÃES, D. P., FERREIRA, M. A.; TEIXEIRA, R.; KRUEL, C. D. P.; BARROS, S. G. S.; ANDREOLLO, N. A.; ACATAUASSÚ, R.; H.J.MATOS, H. J.; ALBANO, R. M.; Ribeiro PINTO, L. F. R. Polymorphisms of GSTP1 and GSTT1, but not of CYP2A6, CYP2E1 or GSTM1, modify the risk for esophageal cancer in a western population. **Carcinogenesis** 28(12): 2537 – 2542, 2007.

ROWLANDS, T.M.; SYMONDS, J.M.; FAROOKHI, R.; BLASCHUK, O.W. Cadherins: crucial regulators of structure and function in reproductive tissues. **Reviews of Reproduction**, v. 5, p. 53-61, 2000.

RUBIN, E.; FABER, J. L. **Patologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RUNSWICK, S.K.; O'HARE, M.J.; JONES, L.; STREULI, C.H.; GARROD, D.R. Desmosomal adhesion regulates epithelial morphogenesis and cell positioning. **Nature Cell Biology**, v. 3, p. 823-830, 2001.

SHAH, U. S.; DHIR, R.; GOLLIN, S. M.; CHANDRAN, U. R.; LEWIS, D.; ACQUAFONDATA, M.; PFLUG, B. R. Fatty acid synthase gene overexpression and copy number gain in prostate adenocarcinoma. **Human Pathology** 37: 401-409, 2006.

SHIN, Y.; KIM, I.J.; KANG, H. C.; PARK, J.H.; PARK, H.w.; PARK, H.W.; PARK, M. A.; LEE, J. S.; YOON, K.A.; KU, J.L.; PARK, J.G. The E-cadherin -347G → GA promoter polymorphism and its effect on transcriptional regulation. **Carcinogenesis** 25: 895–899, 2004.

SHIN, Y.; KIM, I.J.; KANG, H. C.; PARK, J.H.; PARK, H.W.; PARK, H.W.; JANG, s.g.; LEE, M. R.; JEONG, S.Y.; CHANG, H. J.; KU, J.L.; PARK, J.G. A functional polymorphism (-347 G →GA) in the E-cadherin gene is associated with colorectal cancer. **Carcinogenesis** 25(11): 2173–2176, 2004.

SHOOK, S. J.; BEUTEN, J.; TORKKO, K. C.; JOHNSON-PAIS, T. L. TROYER, D. A.; THOMPSON, I. M.; LEACH, R. J. Association of RNASEL Variants with Prostate Cancer Risk in Hispanic Caucasians and African Americans **Clin Cancer Res** 13(19); 5959-5564, 2007.

SOLER, A.P.; RUSSO, J.; RUSSO, I.H.; KNUDSEN, K.A. Soluble fragment of Pcadherin adhesion protein found in human milk. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 85, p. 180-184, 2002.

TAKAHIRO, T.; SHINICHI, K.; TOSHIMITSU, S. Expression of Fatty Acid Synthase as a Prognostic Indicator in Soft Tissue Sarcomas. **Clinical Cancer Research** 9: 2204–2212, 2003.

TAKEICHI, M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. **Science**, v. 251, p. 1451-1455, 1991.

TORKKO, K. C.; Van BOKHOVEN, A.; MAI, P.; BEUTEN, J.; BALIC, I.; BYERS, T. E.; HOKANSON, J. E.; NORRIS, J.; BARO, A. E.; LUCIA, M. S.; THOMPSON, I. M.; LEACH, R. J. VDR and SRD5A2 Polymorphisms Combine to Increase Risk for Prostate Cancer in Both Non-Hispanic White and Hispanic White Men. **Clin Cancer Res** 14(10): 3223-3229, 2008.

TOYOSHIMA, H., HUNTER, T. P27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. **Cell**, v. 78, n. 1, p. 67-74, 1994.

TROTTIER, G.; BOSTRÖM, P. J.; LAWRENTSCHUK, N.; FLESHNER, N. E. Nutraceuticals and prostate cancer prevention: a current review. **Nature Reviews Urology** 7: 1-10, 2010.

TURNPENNY, P.; ELLARD, S. E. **Genética Médica**. 13<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

UMBAS R.; ISAACS W. B.; BRINGUIER P. P.; SCHAAFSMA H. E.; KARTHAUS H. F. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. **Cancer Res** 54: 3929–33, 1994.

UMBAS, R.; SCHALKEN, J. A.; AALDERS, T. W.; CARTER, B. S.; KARTHAUS, H. F. M.; SCHAAFSMA, H. E.; DEBRUYNE, F. M. J.; ISAACS, W. B. Expression of the Cellular Adhesion Molecule E-Cadherin Is Reduced or Absent in High-Grade Prostate Cancer. **Cancer Research** 52: 5104-5109, 1992.

VERHAGE, B. A.; VAN HOUWELINGEN, K.; RUIJTER, T. E.; KIEMENEY, L. A.; SCHALKEN, J. A. Single-nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter modifies the risk of prostate cancer. **Int J Cancer**, 100: 683-685, 2002.

VLEMINCKX K.; VAKAET L. Jr.; MAREEL M.; FIERS W.; Van Roy F. Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. **Cell** 66: 107–19, 1991.

WANG, G.Y.; LU, C.Q.; ZHANG, R.M., HU, X.H.; LUO, Z.W. The E-cadherin Gene Polymorphism -160 C/A and Cancer Risk: A HuGE Review and Meta-Analysis of 26 Case-Control Studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 167, n. 1, p. 7-14, 2008.

YOSHIDA, R.; KIMURA, N.; HARADA, Y.; OHUCHI, N. The loss of E-cadherin,  $\alpha$ - and  $\beta$ -catenin expression is associated with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer. **International Journal of Oncology**, v. 18, p. 513-520, 2001.

ZHANG, X. F.; WANG, Y. M.; WANG, R.; WEI, L.Z.; LI, Y.; GUO, W.; WANG, N.; ZHANG, J.H. Correlation of E-cadherin polymorphisms to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma. **Ai Zheng** 24: 513-519, 2005.

ZOU, X. P.; DAI, W. J., CAO, J. CDH1 promoter polymorphism (-347G  $\rightarrow$  GA) is a possible prognostic factor in sporadic colorectal cancer. **World J Gastroenterol** 15(42): 5340-5345, 2009.