



Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Instituto Biomédico
Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular

**Análise de polimorfismos em genes possivelmente
associados ao câncer de próstata e a hiperplasia benigna
prostática em uma amostra da população do Rio de Janeiro**

Alessandra Lima Dias

Orientador: Prof. Dr. Pedro Hernán Cabello Acero

Rio de Janeiro
2021

Alessandra Lima Dias

Análise de polimorfismos em genes possivelmente associados ao câncer de próstata e a hiperplasia benigna prostática em uma amostra da população do Rio de Janeiro

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular e Celular.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Hernán Cabello Acero

Rio de Janeiro
2021

D541 Dias, Alessandra Lima
 Análise de polimorfismos em genes possivelmente
 associados ao câncer de próstata e a hiperplasia
 benigna prostática em uma amostra da população do
 Rio de Janeiro. / Alessandra Lima Dias. -- Rio de
 Janeiro, 21.
 74 f.

 Orientador: Pedro Hernán Cabello Acero.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do
 Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
 em Biologia Molecular e Celular, 21.

 1. Câncer de Próstata. 2. Hiperplasia Benigna
 Prostática. 3. Genotipagem. 4. Polimorfismo. I.
 Acero, Pedro Hernán Cabello, orient. II. Título.

Alessandra Lima Dias

Análise de polimorfismos em genes possivelmente associados ao câncer de próstata e a hiperplasia benigna prostática em uma amostra da população do Rio de Janeiro

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular e Celular.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Cláudia Alessandra Fortes Aiub - Unirio

Prof. Dr. Pedro Hernán Cabello - Unirio

Dr^a. Vivianne Galante Ramos - Hospital Hamilton Agostinho

Prof^a. Dr^a. Carmem Lúcia Antão Paia - Unirio (suplente)

Dr^a. Danielle Dutra Voigt - Unigranrio (Suplente)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as bênçãos que me fez alcançar até o presente momento, por toda força que me dá todos os dias da minha vida. Sou grata por seu infinito amor por mim, por nunca permitir que eu me sinta sozinha.

A minha família, que são o que eu tenho de mais precioso no mundo, que estão comigo em todos os momentos e com quem eu sei que poderei contar além da vida. Em especial aos meus pais, Denise Dias e Joelson Dias, que sempre me incentivaram a buscar o melhor, que me proporcionaram todas as condições para que pudesse chegar até aqui, que são a razão de tudo em minha vida e, que me ajudaram em mais esta conquista. Agradeço por inúmeras vezes, abdicarem de suas próprias vidas para que pudessem me proporcionar o melhor, e por sempre me incentivarem a buscar meus sonhos. E a minha irmã, Mayara Dias, por ser minha melhor amiga, tão presente em minha vida e sempre pronta a me ajudar e apoiar.

Ao meu querido orientador, Dr. Pedro Cabello, por me receber como orientanda. Agradeço todos os ensinamentos, que serão levados comigo ao longo de minha vida profissional e pessoal, por tamanha paciência em todas as vezes que errei durante a construção deste trabalho e, principalmente, pela confiança. Ter a oportunidade de trabalhar com o ele é motivo de muito orgulho e honra para mim. Serei eternamente grata e sempre o terei como fonte de inspiração.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular e todo seu corpo docente, por me oferecerem excelentes aulas que me proporcionaram um enorme conhecimento. À coordenação e a secretaria do programa, por sempre estarem dispostos a sanar qualquer dúvida existente, sempre com um ótimo trabalho.

À professora Dra. Claudia Aiub, por toda ajuda como minha revisora e por todo apoio, durante o Mestrado.

À Universidade do Grande Rio, especialmente ao Laboratório de Genética (LabGen) e toda sua equipe por me permitirem desenvolver esta pesquisa.

À Dra. Vivianne Galante Ramos, por me dar a oportunidade de ingressar nesta área e que se tornou foi minha referência para seguir adiante na carreira acadêmica. Agradeço pelas inúmeras orientações, conselhos, por ser também um exemplo profissional e um ser humano maravilhoso, que sempre me estendeu a mão.

À doutoranda Tamara Silva pela imensa ajuda, por sempre se fazer disponível no que eu precisasse, independente do dia ou da hora. Serei eternamente grata a ela!

Com toda certeza, ela tem uma grande participação na minha caminhada e no que conquistei até aqui, e também é uma fonte de inspiração para mim.

À toda equipe do LabGen que me acolheu e me ajudou tanto, tornando os meus dias mais leves e divertidos.

Aos pacientes, por aceitarem participar da pesquisa, e seus familiares, por entenderem a importância do estudo.

A todos os médicos colaboradores, pela contribuição na capitação dos pacientes.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERJ, pelo apoio financeiro.

Aos verdadeiros amigos, por todo apoio e torcida.

A todos aqueles, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, expresse aqui minha imensa gratidão!

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida com paixão, perder com classe
e vencer com ousadia, porque o mundo
pertence a quem se atreve e a vida
é muito curta, para ser insignificante.”*

Charlie Chaplin

RESUMO

A mudança na estrutura da pirâmide etária da população brasileira nos últimos anos resultou em um aumento substancial nas doenças de etiologia genética e degenerativa crônica, causando impacto na população idosa. Assim, o câncer de próstata (CaP) e a hiperplasia benigna prostática (HBP) são duas das patologias que estão em forte ascensão na faixa etária mais avançada da população. Os distúrbios da próstata têm uma etiologia multifatorial, com ênfase na idade e fatores genéticos, e o câncer de próstata é o terceiro câncer mais comum na população masculina. Alterações no DNA, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em genes relacionados à proliferação, diferenciação e apoptose, têm sido fortemente associados ao risco de CaP e HBP. O presente projeto teve como objetivo analisar polimorfismos de genes possivelmente envolvidos nas patologias mencionadas aqui. Os genes e polimorfismos selecionados para este estudo foram: *GSTT1* nulo (-) / não nulo (+), *CYP1A1* (rs1379298245), *CDH1* (rs16260), e *TP53* (rs1042522). A amostra foi composta por 292 indivíduos com idade acima de 50 anos, atendidos pela equipe de Urologia da Policlínica de Duque de Caxias e oriundos do INCA, e que foram divididos em três grupos - CaP, HBP e controle - de acordo com seus diagnósticos. Das 292 amostras coletadas 114 são do grupo controle, 133 do grupo HBP e 45 com o câncer de próstata. Não foi observada uma associação significativa nos genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1*, e nem nos polimorfismos rs16260 e rs1042522 com as patologias mencionadas. Já o rs1379298245 apresentou-se associado com o CaP e a HBP nas análises genotípica e alélica. Portanto, a partir dos achados deste estudo, pretende-se ter um melhor entendimento da relação entre o perfil genético dos indivíduos com as patologias estudadas, e assim auxiliar na descoberta de uma possível suscetibilidade dos indivíduos ao CaP e no tratamento diferencial. Acreditamos que esta proposta vai ao encontro da necessidade do aumento de investimento na pesquisa de doenças crônico-degenerativas (de contínuo incremento devido à maior longevidade da população) a fim de diminuir o impacto socioeconômico causado por elas entre os idosos Brasileiros.

Palavras-chave: Câncer de Próstata, Hiperplasia Benigna Prostática, Genotipagem, Polimorfismo

ABSTRACT

The change in the structure of the age pyramid of the Brazilian population in recent years has resulted in a substantial increase in genetic and chronic degenerative diseases, impacting the elderly population. Thus, prostate cancer (PCa) and benign prostatic hyperplasia (BPH) are two of the pathologies that are on the rise in the most advanced age group of the population. Prostate disorders have a multifactorial etiology, with an emphasis on age and genetic factors, and prostate cancer is the third most common cancer in the male population. DNA alterations, such as single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes related to proliferation, differentiation and apoptosis, have been strongly associated with the risk of PCa and BPH. This project aimed to analyze gene polymorphisms possibly involved in the pathologies mentioned here. The genes and polymorphisms selected for this study were: *GSTT1* null (-) / non-null (+), *CYP1A1* (rs1379298245), *CDH1* (rs16260), and *TP53* (rs1042522). The sample consisted of 292 individuals aged over 50 years, cared for by the Urology team at the Polyclinic of Duque de Caxias and from INCA, and who were divided into three groups - PCa, BPH and control - according to their diagnoses. Of the 292 samples collected, 114 are from the control group, 133 from the BPH group and 45 with prostate cancer. No significant association was observed in the null and non-null genotypes of the *GSTT1* gene, nor in the rs16260 and rs1042522 polymorphisms with the mentioned pathologies. On the other hand, rs1379298245 was associated with PCa and BPH in genotypic and allelic analyses. Therefore, based on the findings of this study, it is intended to have a better understanding of the relationship between the genetic profile of individuals with the studied pathologies, and thus help in the discovery of a possible susceptibility of individuals to PCa and in the differential treatment. We believe that this proposal meets the need for increased investment in research on chronic-degenerative diseases (continuously increasing due to the greater longevity of the population) in order to reduce the socioeconomic impact caused by them among elderly Brazilians.

Keywords: Prostate Cancer, Benign Prostatic Hyperplasia, Genotyping, Polymorphis

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Fisiologia da Próstata	2
1.2	Câncer de Próstata (CaP)	5
1.3	Hiperplasia Benigna Prostática (HBP).....	7
1.4	Fatores de Risco	8
1.5	Fatores genéticos relacionados ao CaP.....	9
1.6	Diagnóstico e terapias para o CaP	11
2	JUSTIFICATIVA	13
3	OBJETIVOS	14
3.1	Objetivo geral.	14
3.2	Objetivos específicos.....	14
4	METODOLOGIA	15
4.1	Casuística	15
4.2	Coleta de material biológico.	16
4.2.1	Coleta de sangue	16
4.3	Extração do DNA Genômico.....	16
4.4	Análise dos Polimorfismos Genéticos.	17
4.5	Análise Estatísticas.	19
5	RESULTADOS	19
5.1	Análise Descritiva.....	19
5.2	Padronização da PCR.....	21
5.2.1	Genótipos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i>	21
5.2.2	Polimorfismo rs1379298245 do gene <i>CYP1A1</i>	22
5.2.3	Polimorfismo rs16260 do gene <i>CDH1</i>	23
5.2.4	Polimorfismo rs1042525 do gene <i>TP53</i>	24
5.3	Análise molecular dos genótipos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i>	25
5.4	Análise molecular do polimorfismo rs1379298245 do gene <i>CYP1A1</i>	26
5.5	Análise molecular do polimorfismo rs16260 do gene <i>CDH1</i>	29
5.6	Análise molecular do polimorfismo rs1042525 do gene <i>TP53</i>	32
5.7	Análise entre genótipo e fenótipo das variáveis qualitativas	34
6	DISCUSSÃO	37

7	CONCLUSÃO	44
8	REFERÊNCIAS.....	45
	ANEXO A.....	55
	ANEXO B.....	56
	ANEXO C.....	57
	APÊNDICE A.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da Próstata saudável.....	3
Figura 2. Representação das zonas anatômicas da Próstata.....	4
Figura 3. As características do câncer.....	5
Figura 4. Diagrama esquemático do sistema de classificação Gleason.....	7
Figura 5. Representação da próstata com HBP.....	8
Figura 6. Alterações críticas do câncer.....	10
Figura 7. Representação do exame de toque retal.....	12
Figura 8. Técnica da Reação em Cadeia da Polimerase – PCR.....	17
Figura 9. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da PCR dos genótipos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i>	22
Figura 10. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo rs1379298245.....	23
Figura 11. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo rs16260.....	24
Figura 12. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo rs1042522.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estimativa de novos casos de CaP para o ano de 2020, no Brasil.....	1
Tabela 2. Mortalidade do CaP conforme a localização primária do tumor e sexo para o ano de 2019, no Brasil.....	2
Tabela 3. Lista de genes alvo do estudo.....	1
Tabela 4. Análise comparativa das variáveis quantitativas entre os grupos amostrais.....	2
Tabela 5. Polimorfismos genotipados por PCR e PCR-RFLP.....	2
Tabela 6. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i> no grupo HBP.....	2
Tabela 7. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i> no grupo CaP.....	2
Tabela 8. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i> entre os grupos CaP e HBP.....	2
Tabela 9. Distribuição genotípica do polimorfismo rs1379298245 do gene <i>CYP1A1</i> no grupo HBP.....	2
Tabela 10. Distribuição genotípica do polimorfismo rs1379298245 do gene <i>CYP1A1</i> no grupo CaP.....	2
Tabela 11. Distribuição genotípica do polimorfismo rs1379298245 do gene	2

CYP1A1	entre	os	grupos	CaP	e	8
HBP.....						
Tabela 12.	Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo	1379298245				2
no	gene	CYP1A1	no	grupo		8
HBP.....						
Tabela 13.	Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo	1379298245				2
no	gene	CYP1A1	no	grupo		9
CaP.....						
Tabela 14.	Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo	1379298245				2
no	gene	CYP1A1	entre	os	grupos	CaP
e						
HBP.....						
Tabela 15.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs16260	do			3
gene	CDH1	no	grupo			0
HBP.....						
Tabela 16.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs16260	do			3
gene	CDH1	no	grupo			1
CaP.....						
Tabela 17.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs16260	do			3
gene	CDH1	entre	os	grupos	CaP	e
HBP.....						
Tabela 18.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs1042522	do			3
gene	TP53	no	grupo			2
HBP.....						
Tabela 19.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs1042522	do			3
gene	TP53	no	grupo			3
CaP.....						
Tabela 20.	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo	rs1042522	do			3
gene	TP53	entre	os	grupos	CaP	e
HBP.....						
Tabela 21.	Análise de risco da variável qualitativa obesidade para o					3
polimorfismo	rs16260	do	gene	CDH1	no	grupo
CaP.....						
Tabela 22.	Análise de risco da variável qualitativa tabagista para o					3
polimorfismo	rs1042522	do	gene	TP53	no	grupo
HBP.....						
Tabela 23.	Análise de risco da variável qualitativa hipertensão para os					3
genótipos	nulo e não nulo	do	gene	GSTT1	no	grupo
HBP.....						
Tabela 24.	Análise de risco da variável qualitativa tabagista para os					3
genótipos	nulo e não nulo	do	gene	GSTT1	no	grupo
HBP.....						
Tabela 25.	Análise de risco da variável qualitativa diabetes para os					3
genótipos	nulo e não nulo	do	gene	CYP1A1	no	grupo
HBP.....						

Tabela 26. Análise de risco da variável qualitativa antecedente familiar para o polimorfismo rs1379298245 do gene <i>CYP1A1</i> no grupo HBP.....	3 7
Tabela 27. Análise de risco relativo da variável qualitativa hipertensão os genótipos nulo e não nulo do gene <i>GSTT1</i> entre os grupos CaP e HBP.....	3 7

ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitros
ACS	<i>American Cancer Society</i>
ANOVA	Análise de Variância
Arg	Arginina
CaP	Câncer de Próstata
<i>CDH1</i>	<i>Epithelialcadherin</i>
<i>CYP1A1</i>	Citocromo P450 1A1
DHT	Dihidrotestosterona
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
<i>GSTT1</i>	<i>Glutathione S-Transferase Theta1</i>
HBP	Hiperplasia Benigna Prostática
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LABGEN	Laboratório de Genética
Mg	Miligrama
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
PDC	Policlínica de Duque de Caxias
Pro	Prolina
PSA	Antígeno Específico Prostático
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotação por Minuto
SNPs	Polimorfismos De Nucleotídeo Único
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<i>TP53</i>	Proteína P53
TRUS	<i>Transrectal Ultrasonography</i>
UNIGRANRIO	Universidade do Grande Rio
<i>et al</i>	e outros
g	Gramas
cm	Centímetro
°C	Graus Celsius

1 Introdução

A mudança na estrutura etária brasileira põe em evidência o aumento da expectativa de vida, tendo como consequência um maior número de idosos na nossa população, fazendo necessário o enfrentamento do crescimento de doenças crônico-degenerativas, mais comum em pessoas com idade avançada, que são, em geral, caracterizadas por sua etiologia multifatorial (WHO, 2015). Como exemplo dessas doenças temos o câncer de próstata (CaP) que é considerado característico da terceira idade, já que cerca de três quartos dos casos no mundo ocorrem a partir dos 60 anos. O CaP é o câncer que teve maior aumento na estimativa do número de casos em 2020 no Brasil (29,2%) (figura1), é um dos que mais causam óbito no mundo e o segundo no Brasil (figura2) (INCA, 2020).

Tabela 1. Estimativa de novos casos de CaP para o ano de 2020, no Brasil.

- Em homens, Brasil, 2020

Localização Primária	Casos Novos	%
Próstata	65.840	29,2
Traqueia, Brônquio e Pulmão	20.520	9,1
Cólon e Reto	17.760	7,9
Estômago	13.360	5,9
Cavidade Oral	11.180	5,0
Esôfago	8.690	3,9
Bexiga	7.590	3,4
Laringe	6.470	2,9
Leucemias	5.920	2,6
Sistema Nervoso Central	5.870	2,6
Todas as Neoplasias, exceto pele não melanoma	225.460	100,0
Todas as Neoplasias	309.230	

Fonte: INCA, 2020.

Tabela 2. Mortalidade do CaP conforme a localização primária do tumor e sexo para o ano de 2019, no Brasil.

- Em homens, Brasil, 2019

Localização Primária	Óbitos	%
Traqueia, Brônquios e Pulmões	16.733	13,8
Próstata	15.983	13,1
Cólon e Reto	10.191	8,4
Estômago	9.636	7,9
Esôfago	6.802	5,6
Fígado e Vias biliares intrahepáticas	6.317	5,2
Pâncreas	5.905	4,9
Cavidade oral	5.120	4,2
Sistema Nervoso Central	5.049	4,1
Leucemias	4.014	3,3
Todas as neoplasias	121.686	100,0

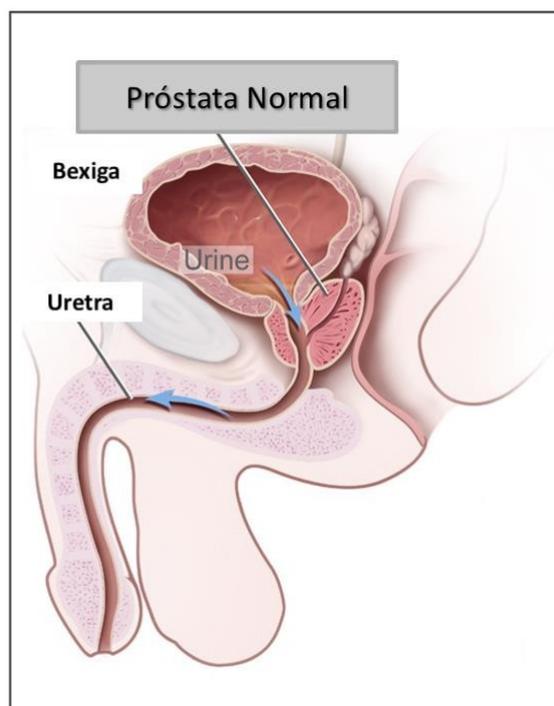
Fonte: INCA, 2021.

Para o ano de 2025 estima-se que a população idosa em nosso país ultrapasse 32 milhões (IBGE, 2019) e isto exige respostas do Estado e da Sociedade quanto à saúde pública. Realizar estudos que auxiliem no diagnóstico e tratamento de pacientes com câncer de próstata é de grande importância para a diminuição da mortalidade causada por esta patologia no Brasil.

1.1 Fisiologia da Próstata

Caracterizada como uma glândula exócrina masculina, a próstata tem seu desenvolvimento estimulado pela testosterona e é responsável pela secreção de cerca de 30% do fluido seminal (Mills *et al.*, 2012). Possui forma arredondada, pesando em torno de 20g em um jovem, medindo 4cm de comprimento e cerca de 4 a 5 cm de largura (figura 1) (Umbreit *et al.*, 2012).

Figura 1. Representação da Próstata saudável.

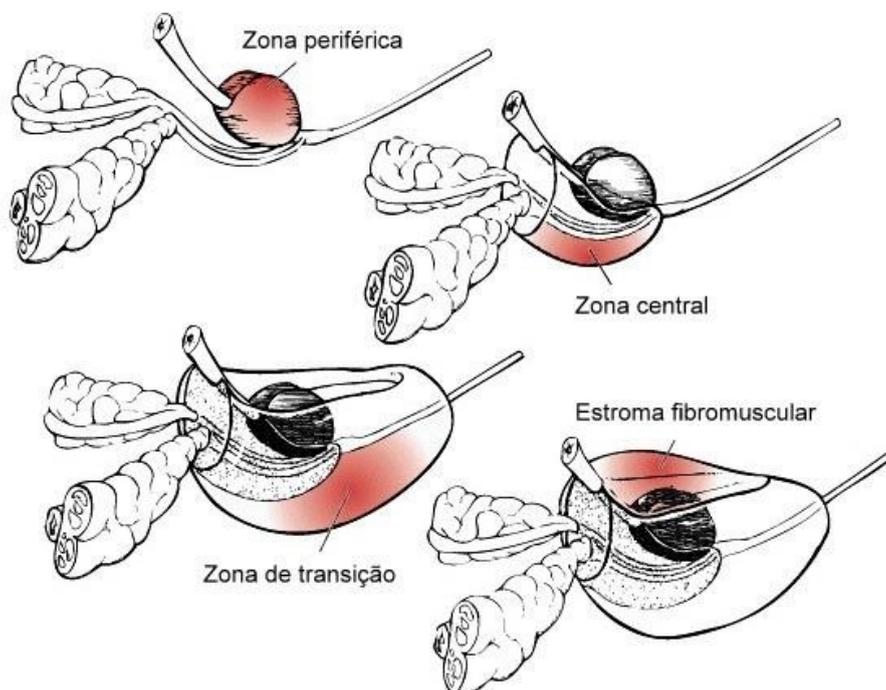


Fonte: adaptada de Ovalle e Nahirney, 2013.

A próstata é revestida pela cápsula prostática que é formada por uma densa camada de tecido conjuntivo composto por fibras de colágeno e elastina, além da musculatura lisa. Além de a próstata ser dividida internamente em três zonas diferentes: central, de transição e periférica (figura 2); possui dois componentes importantes, sendo eles o epitélio glandular e o estroma fibromuscular (Ovalle e Nahirney, 2013).

A zona central possui formato cônico e está localizada superior e posteriormente à uretra proximal, constitui 20% do tecido glandular, mas somente 5% dos casos de câncer de próstata começam nessa região. A região composta pela zona de transição é localizada imediatamente anterior e lateral à uretra proximal, entre as zonas periférica e central, constitui 5% do tecido glandular, é a sede inicial de 25% dos casos de câncer de próstata e, frequentemente é associada com hiperplasia benigna prostática (HBP). A zona periférica envolve a porção mais posterior, lateral e inferior da próstata. Constitui 70% do tecido glandular e também em 70% dos casos é a sede inicial do câncer de próstata (Hammerich *et al.*, 2009; Silveira e Zaidan, 2018).

Figura 2. Representação das zonas anatômicas da Próstata.



Fonte: adaptado de Hammerich *et al.*, 2009.

O epitélio da próstata humana consiste em três maiores componentes celulares: as células basais, luminais e neuroendócrinas. As células basais são achatadas e pequenas na base da membrana. Elas não apresentam receptores androgênicos, sendo consideradas células precursoras do epitélio prostático (Lee e Pheel, 2004).

O estroma prostático envolve inúmeros tipos de células presas em uma matriz extracelular feita de diversos tipos de colágenos e glicoproteínas. Os fibroblastos e as células musculares lisas são os tipos celulares predominantes, embora as células endoteliais androgênio-sensíveis e células nervosas sejam amplamente representadas (Roehrborn e Mcconnel, 2002).

O crescimento anormal da próstata pode se dar por fatores como: ações mecânicas, fatores genéticos, exposição a agentes químicos, e o próprio envelhecimento (Bostwick *et al.*, 2011; Hemelrijck *et al.*, 2012).

1.2 Câncer de Próstata (CaP)

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores. Tem início a partir de danos no DNA que podem modificar a expressão dos genes relacionados a divisão celular. (ACS, 2016; Hollstein *et al.*, 2017). As células neoplásicas compartilham diversas características importantes para sua sobrevivência (figura 3), dentre elas a capacidade de sustentar a proliferação crônica, capacidade de permanecer se dividindo, resistência ao processo de apoptose, capacidade ilimitada de replicação, promoção da angiogênese e a capacidade de invadir tecidos vizinhos (Hanahan e Weinberg, 2011).

Figura 3. As características do câncer.



Fonte: adaptado de Hanahan e Weinberg, 2011.

O CaP começa quando as células da próstata começam a se multiplicar exacerbadamente. A maioria dos tipos de CaP são adenocarcinoma, mas esta

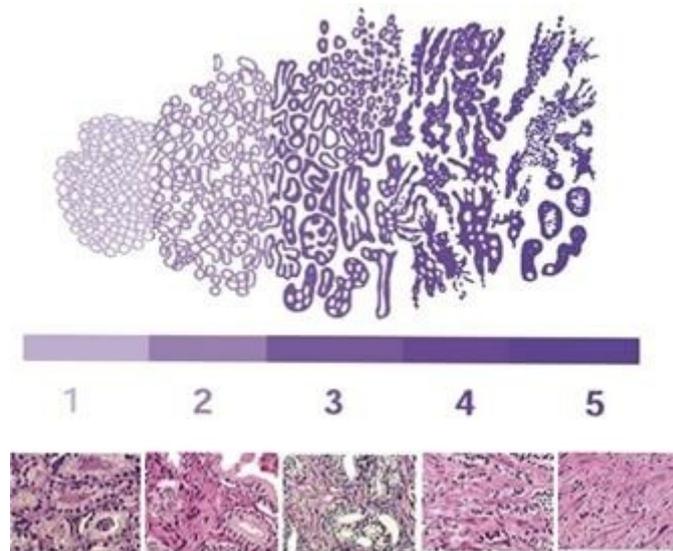
patologia também se apresenta em outros tipos, como sarcomas, carcinomas de células transicionais, carcinomas de pequenas células e tumores neuroendócrinos (exceto carcinomas de pequenas células), porém, esses tipos são raros (ACS, 2016).

Ele mostra evolução lenta e silenciosa, muitas vezes sem sintomas, e quando apresenta é geralmente confundido com o aumento normal da próstata em decorrência do avanço da idade (Jemal *et al.*, 2011). Já em sua fase avançada os sintomas podem ser dor aguda ao urinar, infecção urinária, insuficiência renal e outras manifestações decorrentes de processos metastáticos, como por exemplo a presença de dores ósseas (Vieira *et al.*, 2012). O risco estimado ao longo da vida de um diagnóstico de câncer de próstata é de cerca de 13%, enquanto o risco de morrer de câncer de próstata é de cerca de 2,5 % (Barry *et al.*, 2017).

Podem ocorrer lesões multicêntricas em diferentes zonas do tecido prostático com diferentes graus. Isso se dá, pois, a próstata possui uma cápsula que atua como uma barreira de expansão às células tumorais que tendem a se desenvolver e proliferar para o interior da própria glândula. A progressão das células malignas pode fazê-las migrar para tecidos adjacentes, favorecendo o processo de angiogênese, aumentando as chances da ocorrência de metástase (Miller e Torkko, 2001).

Devido aos seus padrões arquiteturais variados e características citológicas próprias o adenocarcinoma prostático tem sido graduado em diferentes sistemas, dentre eles o escore de Gleason é o mais utilizado atualmente. No sistema de Gleason o padrão arquitetural encontrado em cada caso é graduado de 1 a 5 no qual o 1 corresponde a um tumor bem diferenciado e o 5 a um tumor pouco diferenciado. Logo, ao final desta avaliação, é atribuído o escore de Gleason que consistirá no somatório do primeiro e do segundo padrão arquitetural predominante (figura 4) variando assim entre 2 (Gleason 1+1, tumor bem diferenciado) e 10 (Gleason 5+5, tumor pouco diferenciado) (Campá *et al.*, 2016).

Figura 4. Diagrama esquemático do sistema de classificação Gleason.

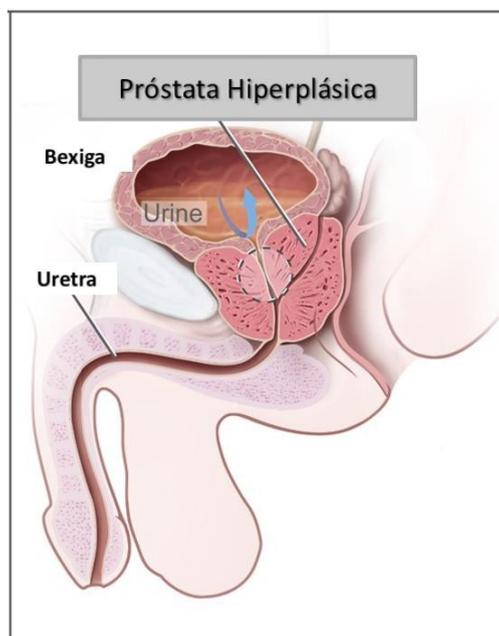


Escala de Gleason para a classificação histológica do adenocarcinoma prostático, levando em conta a morfologia/arquitetura tecidual e diferenciação tumoral e as respectivas imagens histológicas exemplificativas de cada grau. Fonte: Harnden *et al.*, 2007.

1.3 Hiperplasia Benigna Prostática (HBP)

A hiperplasia benigna prostática (HBP) é caracterizada pelo aumento do epitélio da próstata e do estroma prostático, que leva a uma alteração na estrutura dessa glândula, resultando no seu aumento volumétrico (figura 5). A HBP consiste de um tumor benigno e é dependente do metabolito da testosterona, a dihidrotestosterona (DHT), para seu desenvolvimento (Barry *et al.*, 1992). É a patologia geniturinária não-maligna mais comum na população masculina idosa, afetando mais de 40% dos indivíduos com idade superior aos 60 anos (Arjona e Sanz, 2008).

Figura 5. Representação da próstata com HBP



Fonte: adaptada de Ovalle e Nahirney, 2013.

Clinicamente, os sintomas da HBP podem se manifestar, devido ao aumento do volume prostático, de forma obstrutiva, com compressão da bexiga e uretra levando a dificuldade para urinar, e irritativa, levando a incontinência urinária (Srougi *et al.*, 2008). Como consequência, o indivíduo pode apresentar diversos sintomas como esvaziamento incompleto da bexiga, infecções urinárias recorrentes, insuficiência renal, litíase vesical entre outros (Chughtai *et al.*, 2016).

Alguns estudos sugerem que condições genéticas, hormonais e inflamatórias de indivíduos com HBP podem estar ligadas ao desenvolvimento do CaP (Alcaraz *et al.*, 2009; Schenk *et al.*, 2011), porém, ainda são necessários outros estudos para se obter respostas mais concretas sobre a relação entre o CaP e o HBP.

1.4 Fatores de Risco

Muitos são os fatores de risco que parecem estar ligados ao desenvolvimento do CaP. O mais significativo é a idade, onde idosos tem

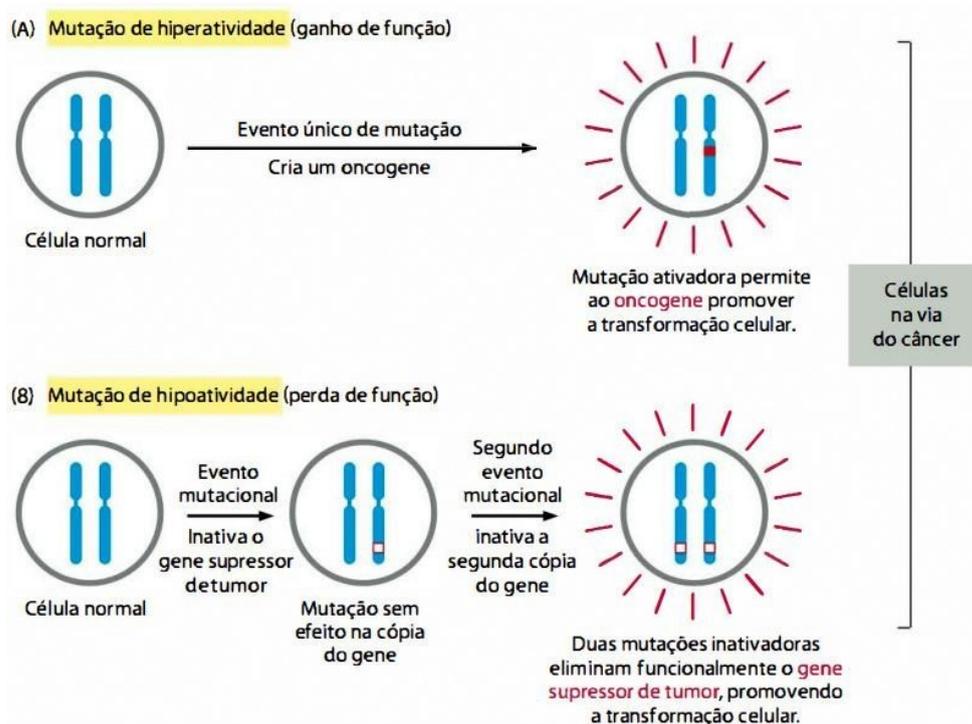
maiores chances de apresentar a doença, mas além desse temos também a etnia, onde indivíduos afrodescendentes têm uma tendência maior de desenvolver esta patologia. Afro-americanos têm uma incidência por idade de cerca de 200 por 100.000 homens, já em homens brancos a incidência é de 120 por 100.000 (Barry *et al.*, 2017).

Outros fatores de risco também estão relacionados ao CaP, como predisposição genética, processos inflamatórios, dieta hiperlipídica, fatores hormonais, tabagismo e obesidade. Indivíduos fumantes podem apresentar a forma mais agressiva do câncer de próstata, bem como maiores complicações, mas estes achados ainda precisam ser melhor investigados por outros estudos (ACS, 2016).

1.5 Fatores Genéticos Relacionados ao CAP

A carcinogênese pode ter relação com a mutagênese, pois modificações genéticas tendem a levar ao desenvolvimento do câncer, mas essas mutações ou polimorfismos devem ser numerosos e, em genes diferentes para terem efeito na carcinogênese. Muitos genes envolvidos na gênese do câncer codificam componentes bioquímicos que regulam o comportamento celular. Essas proteínas codificadas, quando sofrem alterações, podem influenciar no crescimento celular ajudando na proliferação celular exacerbada. Alterações nos proto-oncogenes os convertem em oncogenes, apresentando efeito dominante que promove a perda do controle celular, diferente dos genes supressores tumorais que necessitam de dois eventos mutacionais em função do seu caráter recessivo (figura 6) (Alberts *et al.*, 2010).

Figura 6- Alterações críticas do câncer.



As mutações críticas do câncer situam-se em duas categorias completamente distintas, dominante e recessiva. (A) Oncogenes atuando de forma dominante: uma alteração para ganho de função em uma das cópias do gene conduz a célula em direção à malignidade. (B) Alterações em genes supressores de tumor comumente atuam de maneira recessiva: a função de ambos os alelos dos genes críticos para o câncer deve ser perdida para conduzir a célula em direção ao câncer. Fonte: Alberts *et al.*, 2010.

Polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) se apresentam como diferenças na sequência de bases do DNA que podem ter consequências patológicas diretas, e vem sendo associados a doenças degenerativas, como o Câncer. São modificações genéticas encontradas em mais de 1% da população, que podem estar localizadas em regiões promotora, codificadora e não codificadora (Rocha, 2007; Moraes *et al.*, 2015).

Alterações nas células envolvidas no processo inflamatório podem influenciar na progressão do tumor e também sua metástase devido a uma falha no controle da resposta imune (Robinson e Coussens, 2005; Aggarwal *et al.*, 2006). Indivíduos que apresentam HBP podem apresentar um risco maior de desenvolver CaP devido a inflamação crônica da próstata, quando comparados com indivíduos saudáveis. No entanto, nem todas as doenças inflamatórias crônicas elevam o risco de câncer (MacLennan *et al.*, 2006).

Os genes selecionados para o projeto foram *GSTT1*, *CYP1A1*, *CDH1* e *TP53* (tabela 3). São genes que estão envolvidos com diversos processos no organismo como reparo de DNA, desintoxicação metabólica de carcinogênicos, regulação de fatores transcricionais, entre outros, como pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3. Lista de genes alvo do estudo

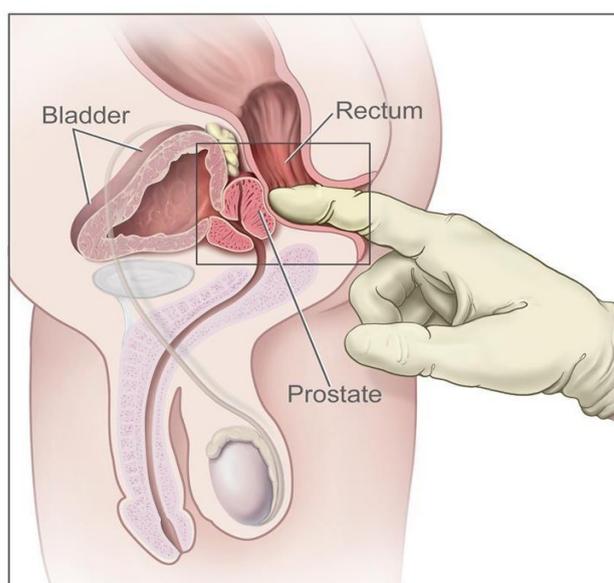
Gene	Localização	Produto	Função celular	Ref
<i>GSTT1</i>	Cromossomo 1	Glutathione S-Transferase Theta 1	Atua na metabolização de dihalometanose na proteção contra danos no DNA, danos esses, causados por metabólitos cancerígenos derivados do meio ambiente.	Strangeet <i>al.</i> , 2001; Eeleset <i>al.</i> , 2013; Maliket <i>al.</i> , 2016
<i>CYP1A1</i>	Cromossomo 15	Citocromo P450 1A1	Atua na ativação de pro carcinógenos ambientais e é responsável pela oxidação de esteroides, ácidos graxos e xenobióticos.	Martin <i>et al.</i> , 2010; Qinet <i>al.</i> , 2018; El Ezzi <i>et al.</i> , 2017
<i>CDH1</i>	Cromossomo 16	Caderina epitelial do tipo 1	Atua na adesão entre células. Pode aumentar a proliferação, invasão e/ou metástase celular.	Markouet <i>al.</i> , 2017; Qiu <i>et al.</i> , 2009
<i>TP53</i>	Cromossomo 17	Proteína P53	Supressor de tumor, atua no reparo ao DNA, parada em G1 e indução de apoptose	Kluthet <i>al.</i> , 2014; Lawrence <i>et al.</i> , 2014

1.6 Diagnóstico e terapias para o CaP

O diagnóstico se dá a partir da realização de exames, levando em consideração os sinais e sintomas no paciente. A forma mais utilizada para o rastreamento do CaP é a realização da dosagem do PSA associado ao toque retal (DRE) (figura 7), que é indicado para indivíduos acima de 45 anos e a realização da ultrassonografia transretal (TRUS), e caso tenha alguma alteração a biópsia transretal. Também se deve levar em consideração a idade, pois o valor do PSA considerado normal se difere entre jovens e idosos. Em geral, aumentos superiores a 0,75 ng/mL ao ano devem ser investigados com a realização da biópsia transretal. A ultrassonografia transretal identifica lesões suspeitas de malignidade e melhora a precisão da biópsia prostática, porém, menos da metade das lesões malignas são detectadas por ela (Dornas *et al.*, 2008).

Apesar de todos os exames utilizados para o diagnóstico do câncer, se fazem necessários estudos que possam detectar alterações nos genes possivelmente associados ao desenvolvimento do CaP podendo assim, contribuir para descoberta de uma possível suscetibilidade do indivíduo ao CaP, facilitando o diagnóstico precoce, e até uma possível descoberta de marcadores moleculares, e ajudando também no desenvolvimento de novas formas terapêuticas.

Figura 7. Representação do exame de toque retal.



Fonte: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/prostate/Patient>

As terapias para o CaP variam de acordo com o grupo de risco no qual o paciente se enquadra, elas devem visar tanto o controle oncológico quanto a manutenção da qualidade de vida. Deve-se considerar o estadiamento da doença, a expectativa de vida do paciente e outras doenças apresentadas pelo mesmo, assim como os efeitos colaterais de cada tratamento, e tem como objetivo promover um efeito paliativo, curar e/ou impedir sua reincidência (Dornas *et al.*, 2008). São diversos os possíveis procedimentos utilizados no tratamento do CaP, como imunoterapia, terapia-alvo, hormonioterapia, radioterapia, quimioterapia e cirurgia (Murad e Kats, 1996; Dornas *et al.*, 2008; James *et al.*, 2016). Alguns desses tratamentos podem ainda ser associados a

um melhor ou pior prognóstico, de acordo com o perfil genético do indivíduo portador da doença. (INCA, 2018).

2 Justificativa

O Brasil possui uma população bastante miscigenada o que a torna mais interessante para estudos genéticos, como o do CaP e do HBP.

A redução do número médio de filhos por casal, o decréscimo das taxas de mortalidade devido às doenças infecto-parasitárias e o aumento da expectativa de vida da população são alguns fatores extremamente relevantes observados nos últimos anos no Brasil. Como consequência disso verifica-se uma profunda transformação na estrutura etária da população. Dados do censo demográfico de 2010 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística mostraram que a faixa de idosos (indivíduos acima dos 60 anos) é o segmento da população que mais cresce (IBGE, 2013). Estima-se que 11,3% da população (ao redor de 19 milhões) sejam de idosos. Se em 1980 a razão de idosos por crianças era de 16/100 e em 2008 essa razão era de 24,7/100, e espera-se que em 2050 o número de idosos supere o de crianças.

Uma vez que a longevidade vem aumentando em nossa sociedade e com a mudança na pirâmide etária brasileira, se faz necessária a mudança do foco de pesquisa para as doenças crônico-degenerativas, que são próprias da população acima de 60 anos. Visto que os homens aderem pouco aos tratamentos de prevenção e possuem menos iniciativa de se consultar periodicamente com um médico, é de se esperar que essas doenças e suas possíveis complicações se desenvolvam para quadros mais graves (Ferlay *et al.*, 2015). No Brasil, de acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer (2020), a estimativa de novos casos de câncer de próstata para os próximos anos é maior que 65.000/ano.

Os estudos de associação do genoma completo (GWAS) já identificaram a relação de mais de 70 variantes polimórficas com o risco de CaP e HBP e, em alguns casos, já as relacionaram com tipos mais agressivos dessas patologias (Cybulski *et al.*, 2013). Esses dados demonstram a importância dos

estudos genéticos para que assim, possam auxiliar na descoberta de uma possível suscetibilidade dos indivíduos ao CaP, auxiliar no diagnóstico precoce e de alguma forma possibilitar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

Muitos benefícios podem ser alcançados através de pesquisas genéticas de doenças multifatoriais em uma população tão miscigenada quanto a do Rio de Janeiro. Além de possibilitar uma melhor compreensão da genética populacional da HBP e do CaP, a busca por biomarcadores pode também contribuir para o diagnóstico precoce e conseqüentemente, para um melhor prognóstico destas doenças.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

O presente estudo tem por objetivo principal analisar o possível efeito de polimorfismos em genes sugeridos como associados ao Câncer de Próstata e a Hiperplasia Benigna Prostática em uma amostra da população do Rio de Janeiro.

3.2 Objetivos específicos:

- Realizar a análise descritiva de amostras selecionadas em um grupo de pacientes com câncer de próstata, outro grupo de pacientes com hiperplasia benigna prostática e um grupo com indivíduos saudáveis (controle);
- Analisar os genótipos nulo (-) e não nulo (+) do gene *GSTT1*, e as variantes polimórficas rs1379298245 do gene *CYP1A1*, rs16260 do gene *CDH1* e rs1042522 do gene *TP53* nos três grupos selecionados (pacientes com Câncer de Próstata, pacientes com Hiperplasia Benigna Prostática e grupo controle);

- Analisar a distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos estudados para estimar os efeitos/riscos relativos desses polimorfismos sobre o Câncer de Próstata e a Hiperplasia Benigna Prostática ao serem comparados ao grupo controle;
- Analisar as possíveis relações entre o genótipo e o fenótipo da doença utilizando variáveis antropométricas e bioquímicas, através de testes do tipo caso-controle.

4 Metodologia

4.1 Casuística

Para o desenvolvimento do presente estudo, foram utilizadas amostras de sangue periférico coletadas de indivíduos a partir de 50 anos atendidos pela equipe de Urologia da Policlínica de Duque de Caxias. O diagnóstico clínico foi realizado por essa equipe e os indivíduos que não apresentavam sintomas característicos das doenças e exames negativos foram considerados como participantes do grupo controle. Os critérios de inclusão selecionados para a formação do grupo CaP são: idade (a partir de 50 anos) e diagnosticados clinicamente como portadores do Câncer de Próstata. Os critérios de inclusão para a formação do grupo HBP são: idade (a partir de 50 anos) e apresentar clinicamente a Hiperplasia Benigna Prostática. O critério de exclusão tanto para o grupo controle quanto para os grupos de pacientes é a evidência de prostatites. Algumas amostras de CaP foram obtidas a partir do banco do INCA.

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição sob o número 8810618.8.0005253 e seguiu estritamente as recomendações exigidas pela Resolução CNS nº 466/2012.

Todos os indivíduos que concordam em participar do estudo assinam o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) e todo e qualquer procedimento somente foi iniciado após este consentimento expresso.

4.2 Coleta de material biológico

4.2.1 Coleta de sangue

Foram coletadas duas amostras de 5 ml de sangue periférico de cada paciente, em um tubo de hemograma contendo o coagulante EDTA. A coleta do material foi realizada por profissional especializado, a partir da concordância de sua participação no estudo. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Genética da Unigranrio (LabGen), para serem processadas e armazenadas.

4.3 Extração do DNA Genômico

A extração e purificação do DNA genômico a partir de sangue compreenderam várias etapas que incluíram a lise das células, degradação de proteínas e do RNA e precipitação do DNA. A extração foi realizada a partir da camada de leucócitos de uma alíquota de sangue periférico, utilizando o kit de extração FlexiGene DNA Kit (Qiagen®).

A partir de 100 µL de sangue foram adicionados 250µL do tampão FG1 em um microtubo e foi invertido 5 vezes. Após esse procedimento o microtubo foi levado para a centrífuga durante 1 minuto a 10.000 RPM. O sobrenadante foi cuidadosamente descartado e o microtubo foi invertido até que o pellet esteja totalmente seco. Foi misturado ao tampão FG2 e a protease em um microtubo separado. Então foi adicionado 50 µL do tampão FG2/protease e homogeneizado no misturador do tipo vortex até que o pellet seja dissolvido completamente. O microtubo foi invertido algumas vezes e incubado a 65°C por 5 minutos. Então, foi adicionado 50 µL de isopropanol absoluto até que a precipitação do DNA se torne visível. Novamente a amostra retornou para a centrifuga por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Posteriormente foi adicionado 50 µL de etanol 70%, vortexado e novamente centrifugado. Após esse procedimento, o sobrenadante foi descartado e finalmente foi adicionado 50 µL do tampão FG3, vortexando e o incubando a 65°C por 10 minutos, finalizando o processo de extração.

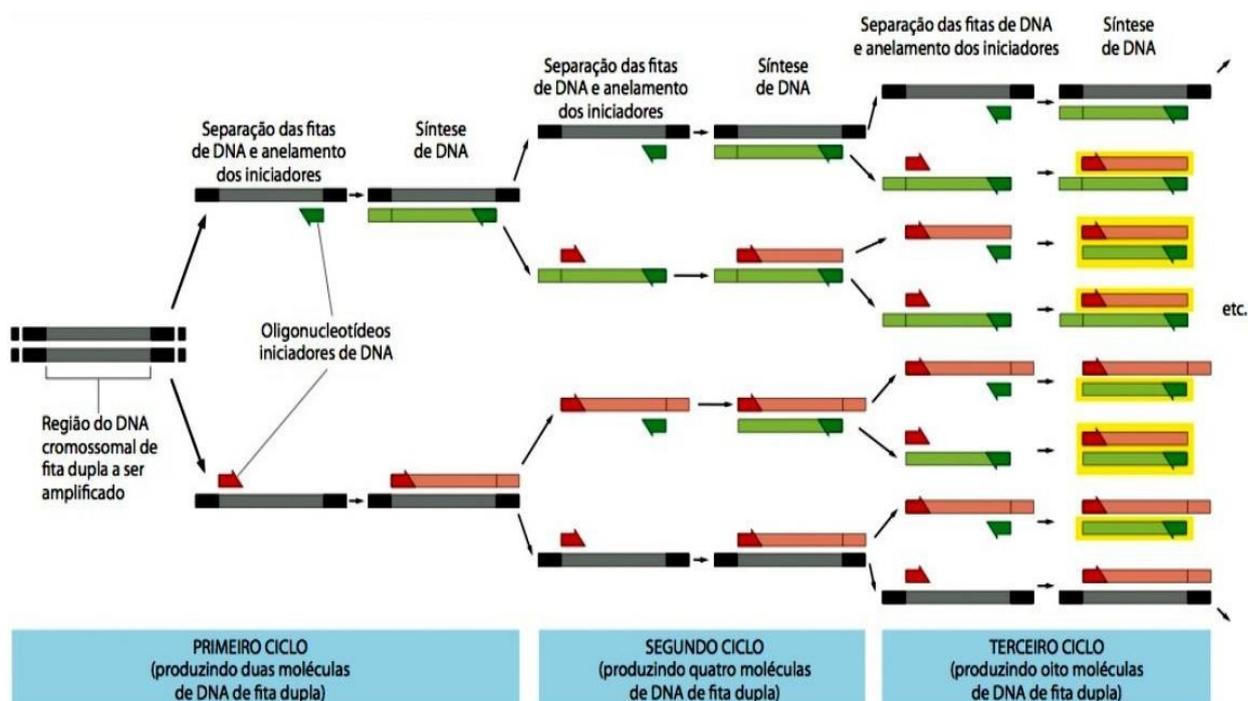
O DNA extraído foi quantificado a partir do equipamento Denovix e, após, armazenado em freezer -16°C no LabGen.

4.4 Análise dos Polimorfismos Genéticos

Os genes selecionados para o desenvolvimento desse projeto foram analisados por meio das técnicas de PCR-RFLP e PCR convencional.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi desenvolvida em 1980 revolucionando diversas áreas da ciência. A técnica é empregada para amplificação de sequências de determinada região da molécula de DNA (figura 8), onde essa molécula servirá de molde para produzir milhares de cópias da molécula inicial. As amplificações de PCR podem ser agrupadas em três categorias diferentes: PCR padrão, PCR longo e PCR multiplex (Alberts *et al.*, 2010; Bartlett e Stirling, 2003).

Figura 8 - Técnica da Reação em Cadeia de Polimerase - PCR.



Fonte: adaptado de Alberts *et al.*, 2009.

A reação de PCR envolve, geralmente, três fases: desnaturação, pareamento e extensão, sendo cada fase (desnaturação $92-96^{\circ}\text{C}$, pareamento

60-65°C e o anelamento 72-76°C) repetida um determinado número de vezes. Ao final da técnica de PCR são obtidas milhares de cópias da sequência molde de DNA (Vieira, 2011).

Já o PCR-RFLP consiste na amplificação pela PCR de uma região do DNA seguida do corte por digestão enzimática. As cópias desta região-alvo amplificadas são digeridas por enzimas extraídas de bactérias denominadas endonucleases de restrição. Essas endonucleases reconhecem e cortam sítios específicos da região-alvo, gerando fragmentos que podem ser separados por tamanho após eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida (Pavan e Monteiro, 2014).

Os genótipos homocigoto nulo (-) e heterocigoto/homocigoto não nulo (+) do gene *GSTT1* foram genotipados por meio de PCR convencional, e os polimorfismos *rs1379298245* do gene *CYP1A1*, *rs16260* do gene *CDH1* e *rs1042522* do gene *TP53* foram genotipados através da técnica de PCR-RFLP. Para análise de tais polimorfismos, foram realizadas reações de PCR utilizando 1µl (50ng) de DNA genômico, 5 pmoles de cada iniciador (senso e antisenso), 1X de Tampão, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2mM de cada nucleotídeo (dATP, dCTP, dTTP e dGTP), 1 U da enzima Taq DNA polimerase (*Invitrogen*) e água estéril, para atingir um volume final 25 µl. Foi utilizada a β-globina como marcador interno da reação para os genes *GSTT1* e *CYP1A1* e *CDH1*. Para amplificação da sequência alvo do *CYP1A1* foi utilizada uma ciclagem que incluiu uma desnaturação inicial de 95°C durante 5 minutos, seguido por 35 ciclos a 95°C por 1 min, 64°C por 1 min e 72°C durante 1 min. A extensão final foi de 72°C por 10 min. Para a amplificação da sequência alvo do *GSTT1* a ciclagem incluiu uma desnaturação inicial de 98°C durante 3 min, seguido por 35 ciclos a 94°C por 1 min, 64°C por 1 min e 72°C durante 1 min. A extensão final foi de 72°C por 10 min. Para amplificação da sequência alvo do *CDH1* a ciclagem foi de desnaturação inicial de 95°C durante 5 min, seguido por 30 ciclos a 95°C por 40 seg, 65°C por 30 seg e 72°C durante 50 seg. A extensão final foi de 72°C por 10 min. Para a amplificação da sequência alvo do *TP53* foi utilizada uma ciclagem com desnaturação inicial de 95°C durante 3 minutos, seguido por 35 ciclos a 95°C por 1 min, 64°C por 1 min e 72°C durante 1 min. A extensão final foi de 72°C por 10 min.

A digestão dos genes *CYP1A1*, *CDH1* e *TP53* foram feitas com as enzimas de restrição *HINCII*, *HINCII* e *BSTUI* respectivamente, após as técnicas de PCR e verificação dos produtos de amplificação por meio da eletroforese em gel de agarose.

Para toda reação foi incluído um controle negativo realizado em duplicata, para garantir que nenhuma contaminação tivesse ocorrido. Todas as análises foram realizadas com a utilização do termociclador *Veriti* (*Thermo fisher Scientific*).

4.5 Análise Estatística

Inicialmente foi feita uma análise descritiva detalhada de todas as variáveis (qualitativas e quantitativas) incluídas no estudo. Segue-se uma análise onde foram aplicadas diversas técnicas de análise inferencial como o teste de t-student, análise de variâncias, análise de regressão. Nos casos onde a distribuição das variáveis se afaste significativamente da normalidade, os testes alternativos foram os Não-Paramétricos como o Wilcoxon, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis

Para execução das análises estatísticas foi utilizado o programa SPSS (versão 22.0) que é empregado na execução dos testes t- student, ANOVA (complementada pelo teste Post Hoc: Student-Newman-Keuls) e análise de regressão logística. A inferência de todos os resultados foi avaliada ao nível de significância de 0,05.

5 Resultados

5.1 Análise descritiva

Foram coletadas 292 amostras sendo 114 do grupo controle, 133 do grupo com a hiperplasia benigna prostática (HBP) e 45 com o câncer de próstata (CaP). A coleta foi feita como fluxo contínuo, sendo realizada toda semana para a captação de novos controles e pacientes. Foram feitas análises comparativas para verificar a distribuição das principais variáveis quantitativas entre os grupos amostrais (tabela 4). Apenas as variáveis idade, PSA total,

PSA livre, volume da próstata e peso da próstata mostraram diferenças estatísticas significativas.

Após a análise descritiva foi realizado também um teste ANOVA (complementada pelo teste Student-Newman-Keuls) para verificar se as médias dos grupos amostrais eram iguais ou diferentes. Os resultados mostraram que as variáveis PAS, PAD e IMC não apresentam médias diferentes nos grupos amostrais CaP, HBP e controle.

No grupo controle, observam-se diferenças significativas nas médias de idade ($p=0,000$), peso da próstata ($p=0,044$) e volume da próstata ($p=0,089$) em relação ao CaP e idade ($p=0,000$), peso da próstata ($p=0,000$) e volume da próstata ($p=0,005$) comparado ao HBP.

O grupo CaP apresentou diferenças significantes nas médias das variáveis PSA total ($p=0,005$) e PSA livre ($p=0,000$) quando comparadas com os valores do grupo HBP, e PSA total ($p=0,012$) e PSA livre ($p=0,000$) quando comparadas com o grupo controle.

Tabela 4. Análise comparativa das variáveis quantitativas entre os grupos amostrais.

	CaP		HBP		Controle		Total
Número de casos	45 (15,41%)		133 (45,55%)		114 (39,04%)		292
Variáveis	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	Média ± DP	p
Idade (anos)	45	71,29±7,55	133	68,58±8,61	113	59,86±9,02	0,000
IMC	25	20,69±4,15	123	26,28±4,55	106	26,68±4,09	0,761
PSA Total (ng/mL)	38	126,89±450,34	100	4,82±9,30	50	1,26±1,09	0,004
PSA Livre (ng/mL)	18	3,51±6,24	90	0,82±1,03	47	0,33±0,20	0,000
Peso da Próstata (g)	21	46,77±25,47	77	52,98±24,78	24	30,26±9,75	0,000
Volume da Próstata (m ³)	22	85,33±53,74	71	96,67±46,28	20	58,51±38,73	0,007
PAS (mmHg)	25	128,80±11,66	125	131,60±20,14	103	131,60±17,09	0,767
PAD (mmHg)	25	75,60±16,09	125	80,24±12,60	103	79,01±16,54	0,344

Nota: os valores indicam média ± desvio padrão; p é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis. PSA: antígeno prostático específico. Fonte: elaborada pelo autor.

5.2 Padronização da PCR

A genotipagem dos polimorfismos nos genes *GSTT1* - / + (rs144686326), *CYP1A1* (rs1379298245), *CDH1* (rs16260) e *TP53* (rs1042522) foram realizadas através das técnicas de PCR e PCR-RFLP. Após a PCR convencional, para os genes *CYP1A1*, *CDH1* e *TP53*, o produto foi submetido à clivagem utilizando enzima de restrição específica para cada polimorfismo (tabela 5).

Tabela 5. Polimorfismos genotipados por PCR e PCR-RFLP

dbSNP ID	Primer Forward	Primer Reverse	Enzima
<i>GSTT1</i> - / + *	5' TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC 3'	5' TCACCGGATCATGGCCAGCA3'	-
<i>CYP1A1</i> (rs1379298245)	5' GTCTCCCTCTGGTTACAGGA 3'	5'GAAAGACCTCCCAGCGGGCA 3'	HincII
<i>CDH1</i> (rs16260)	5' AGTGAGCTGTGATCGCACCACT 3'	5' CCACCCGGCCTCGCATAGACG 3'	HincII
<i>TP53</i> (rs1042522)	5' TTGCCGTCCCAAGCAATG 3'	5' GGGAAAGGGACAGAAGATG 3'	Bstul

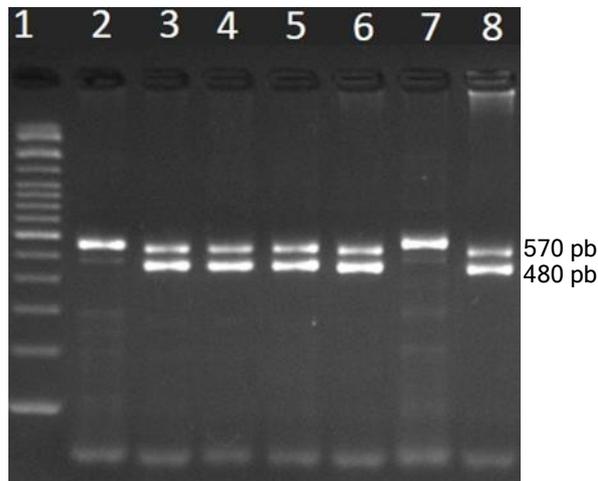
Nota: * - = nulo; + = não nulo. Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

5.2.1 Genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1*

A identificação dos alelos nulo e não nulo do gene *GSTT1* foi realizada por meio da amplificação por PCR, visto que os portadores do alelo variante em homozigose apresentam a deleção das duas cópias da sequência do gene. Os primers utilizados foram descritos por Kempkes *et al.*, 1996 (tabela 4).

Para verificar o sucesso da amplificação (pela amplificação da sequência alvo do gene β -globina) e identificar os genótipos homozigotos selvagens (não nulo/não nulo; presença do produto de 480 pb) e homozigotos variantes (nulo/nulo; ausência do produto de 480 pb), os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% (figura 9), corados com GelRedTM (*Biotium*) visualizados em transiluminador UV (*Biometrix*).

Figura 9. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da PCR dos genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1*



Coluna 1: marcador de tamanho de fragmento de 100pb; coluna 2: nulo (-) + β -globina; colunas 3-6: não nulo (+) + β -globina; coluna 7: nulo (-) + β -globina; coluna 8: não nulo (+) + β -globina. Fonte: elaborada pelo autor (2020).

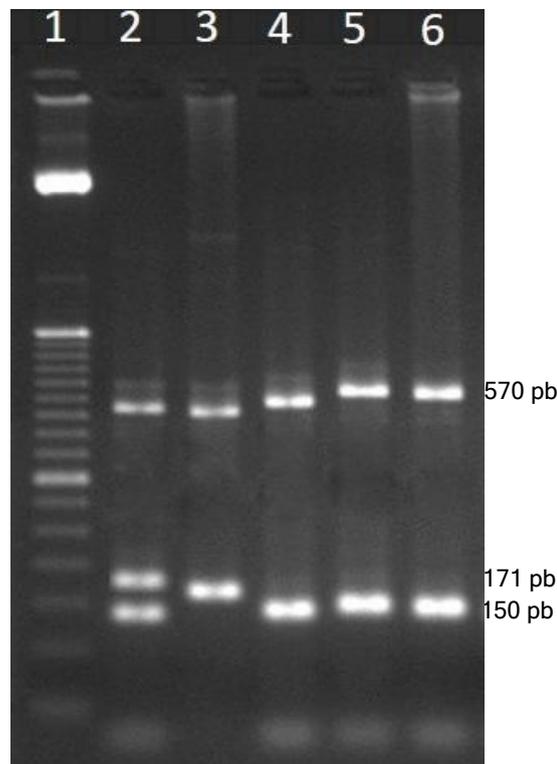
5.2.2 Polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1*

A região alvo do DNA utilizada para a identificação do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* foi amplificada por meio da técnica de PCR. Os primers utilizados foram descritos por Katoh *et al.*, 1995 (tabela 4).

Para verificar o sucesso da amplificação, os produtos de PCR (171pb) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRed™ (*Biotium*) visualizados em transiluminador UV (*Biometrix*).

Em seguida, os produtos de PCR foram submetidos à digestão utilizando 5U da endonuclease *HINCII* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 37°C durante 4 horas, utilizando o tampão recomendado pelo fabricante. Após a digestão, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2%, coradas e visualizadas no transluminador, devidamente fotografadas e armazenadas (figura 10).

Figura 10. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo *rs1379298245*.



Coluna 1: marcador de tamanho de fragmento de 50pb; coluna 2: AG + beta-globina; coluna 3: AA+ beta-globina; colunas 4-6: GG+ beta-globina. Fonte: elaborada pelo autor (2020).

5.2.3 Polimorfismo *rs16260* do gene *CDH1*

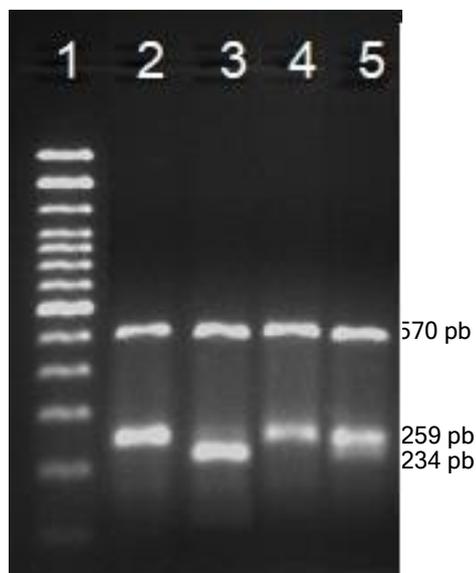
A região do DNA que abrange o polimorfismo *rs16260* foi amplificada através da técnica de PCR. Os primers utilizados foram descritos por Porter *et al.*, 2002 (tabela 4). Os reagentes e a ciclagem foram descritos na metodologia.

Para verificar se a amplificação ocorreu, os produtos de PCR (259pb) foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRedTM (*Biotium*) visualizados em transiluminador UV (*Biometrix*).

Em seguida, os produtos de PCR foram digeridos utilizando 5U da endonuclease de restrição *HINCII* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 37°C durante 4 horas, utilizando o tampão recomendado pelo fabricante. Após a digestão as amostras foram submetidas à eletroforese em

gel de agarose a 2%, corados e visualizados no transluminador, devidamente fotografados e armazenados (figura 11).

Figura 11. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo *rs16260*.



Coluna 1: marcador de tamanho de fragmento de 100pb; coluna 2: CC+ beta-globina; coluna 3: AA+ beta-globina; coluna 4: CC+ beta-globina; coluna 5: CA+ beta-globina. Fonte: elaborada pelo autor (2021).

5.2.4 Polimorfismo *rs1042522* do gene *TP53*

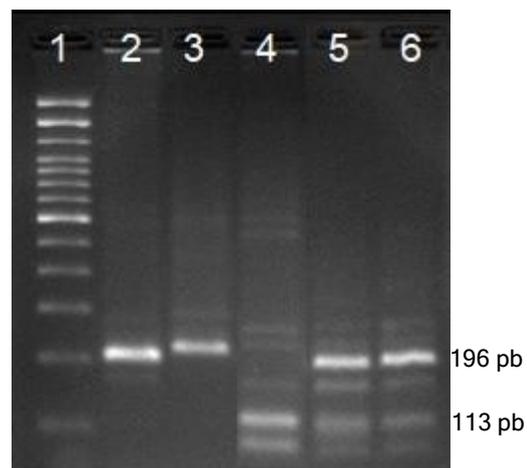
A região do DNA que abrange o polimorfismo *rs1042522* foi amplificada através da técnica de PCR. Os primers utilizados foram descritos por Rogler *et al.*, 2011 (tabela 4). Os reagentes e a ciclagem foram descritos na metodologia.

Para verificar se a amplificação ocorreu, os produtos de PCR (196pb) foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRedTM (*Biotium*) visualizados em transluminador UV (*Biometrix*).

Em seguida, os produtos de PCR foram digeridos utilizando 5U da endonuclease de restrição *BSTUI* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 60°C durante 4 horas, utilizando o tampão recomendado pelo

fabricante. Após a digestão as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados e visualizados no transluminador, devidamente fotografados e armazenados (figura 12).

Figura 12. Gel de agarose realizado para visualizar os produtos da digestão do polimorfismo rs1042522.



Coluna 1: marcador de tamanho de fragmento de 100pb; coluna 2 e 3: CC; coluna 4: GG; coluna 5 e 6: CG.
Fonte: elaborada pelo autor.

5.3 Análise molecular dos genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1*

A análise dos genótipos homocigoto nulo (-) e não nulo (+) do gene *GSTT1* foi realizada em 292 amostras, sendo 114 destes do grupo controle, 133 do grupo HBP e 45 do CaP.

Os dados da tabela 6 mostram que não houve associação significativa das frequências genotípicas do grupo HBP com os genótipos nulo e não nulo de *GSTT1* ($p=0,732$).

Tabela 6. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene *GSTT1* para o grupo HBP

Variante de <i>GSTT1</i>	Genótipo	HBP	Controle	Total	<i>p'</i>
Presença / Ausência	N-nulo	105	92	197	0,732
	Nulo	28	22	50	
	Total	133	114		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Na tabela 7 podemos observar que no grupo CaP também não foi encontrada associação genotípica significativa com *GSTT1* nulo e não nulo.

Tabela 7. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene *GSTT1* para o grupo CaP

Variante de <i>GSTT1</i>	Genótipo	CAP	Controle	Total	<i>p'</i>
Presença / Ausência	N-nulo	37	92	129	0,278
	Nulo	8	22	30	
	Total	45	114		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Nos testes feitos entre as patologias Cap e HBP, mostrados na tabela 8, não foi encontrada uma associação significativa da distribuição dos genótipos nulo e não nulo com as doenças ($p=0,636$).

Tabela 7. Distribuição genotípica dos homozigotos nulo e não nulo do gene *GSTT1* entre os grupos CaP e HBP

Variante de <i>GSTT1</i>	Genótipo	CAP	HBP	Total	<i>p'</i>
Presença / Ausência	N-nulo	37	105	142	0,636
	Nulo	8	28	36	
	Total	45	133		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

5.4 Análise molecular do polimorfismo rs1379298245 do gene CYP1A1

Para o estudo da possível associação do variante rs1379298245 com as patologias abordadas foram realizadas as distribuições genótípicas e alélicas em 287 amostras, sendo 132 do grupo HBP, 45 do grupo CaP e 110 do grupo controle, além de ter sido realizado o teste de Hardy-Weinberg para verificação do equilíbrio genético da amostra.

Nas análises feitas para o grupo HBP, foram encontradas associações significativas nas análises genotípica e alélica ($p=0,000$ e $p=0,000$ respectivamente) (tabela 9).

Tabela 9. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene CYP1A1 para o grupo HBP

dbSNP ID	Genótipo	HBP	Controle	Total	p'
rs1379298245	AA	8	75	83	0,000
	AG	88	8	96	
	GG	36	27	63	
	Total	132	110	242	
	χ^2 (H-W)	20,716	74,024		
	Alelos				p''
	A	104	158	262	0,000
	G	160	62	222	
	Total	264	220	484	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Quanto ao grupo CaP, também foi encontrada associação genotípica e alélica com a variante rs1379298245 ($p=0,000$ e $p=0,000$ respectivamente) (tabela 10).

Tabela 10. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* para o grupo CaP

dbSNP ID	Genótipo	CAP	Controle	Total	p'
rs1379298245	AA	10	75	85	0,000
	AG	5	8	13	
	GG	30	27	57	
	Total	45	110	155	
	χ^2 (H-W)	23,528	74,024		
	Alelos				p''
	A	25	158	183	0,000
	G	65	62	127	
	Total	90	220	310	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Na comparação entre os grupos Cap e HBP, mostrada na tabela 11, as análises genotípica e alélica mostraram resultados significativos na associação destas patologias com o polimorfismo rs1379298245 ($p=0,000$ e $p=0,048$ respectivamente).

Tabela 11. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* entre os grupos CaP e HBP

dbSNP ID	Genótipo	CAP	HBP	Total	p'
rs1379298245	AA	10	8	18	0,000
	AG	5	88	93	
	GG	30	36	66	
	Total	45	132	177	
	χ^2 (H-W)	23,528	20,716		
	Alelos				p''
	A	25	104	129	0,048
	G	65	160	225	
	Total	90	264	354	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

A respeito do teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg, nenhum dos grupos se apresentou em equilíbrio genético.

A partir dos resultados significativos encontrados para o polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1*, foram feitas análises alélicas das mesmas amostras para estimativa do risco relativo (OR) do polimorfismo citado.

No grupo HBP o alelo mutado (G) apresentou um risco 3,92 vezes maior comparado ao selvagem (A) (tabela 12).

Tabela 12. Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* no grupo HBP

<i>CYP1A1</i>	HBP	Controle	Total	<i>p'</i>	OR
A	104	158	262	0,000	3,92
G	160	62	222		
Total	264	220	484		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição alélica entre os grupos. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

Para o grupo CaP, o risco se apresenta 6,51 vezes maior no alelo mutado (G) em relação ao selvagem (A) (tabela 13).

Tabela 13. Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* no grupo CaP

<i>CYP1A1</i>	CaP	Controle	Total	<i>p'</i>	OR
A	25	158	183	0,000	6,51
G	65	62	127		
Total	90	220	310		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição alélica entre os grupos. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

Na comparação entre os grupos CaP x HBP (este último usado como referência) as análises mostraram um risco 1,67 vezes maior para o alelo mutado (G) para o desenvolvimento do CaP (tabela 14).

Tabela 14. Odds ratio da distribuição alélica do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* entre os grupos CaP e HBP

<i>CYP1A1</i>	CaP	HBP	Total	<i>p'</i>	OR
A	25	104	129	0,048	1,67
G	65	160	225		
Total	90	264	354		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição alélica entre os grupos. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

5.5 Análise molecular do polimorfismo rs16260 do gene *CDH1*

Para o estudo da associação da variante *rs16260* com as patologias abordadas foram realizadas as distribuições genóticas e alélicas em 289 amostras, sendo 131 HBP, 45 CaP e 113 controle, além de ter sido realizado o teste de Hardy-Weinberg para verificação do equilíbrio genético da amostra.

A tabela 15 nos mostra que não foi encontrada associação significativa do polimorfismo *rs16260* nas análises genotípica e alélica com o grupo HBP ($p=0,195$ e $p=0,222$ respectivamente).

Tabela 15. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *rs16260* do gene *CDH1* para o grupo HBP

dbSNP ID	Genótipo	HBP	Controle	Total	<i>p'</i>
rs16260	CC	70	72	142	0,195
	CA	54	34	88	
	AA	7	7	14	
	Total	131	113	244	
	χ^2 (H-W)	0,688	1,145		
	Alelos				<i>p''</i>
	C	194	178	372	0,222
	A	68	48	116	
	Total	262	226	488	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. *p''* é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Nas análises feitas para grupo CaP também não foi encontrada significância genotípica e alélica desta variante com a neoplasia ($p=0,623$ e $p=0,684$ respectivamente) (tabela 16).

Tabela 16. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *rs16260* do gene *CDH1* para o grupo CAP

dbSNP ID	Genótipo	CAP	Controle	Total	p'
rs16260	CC	26	72	98	0,623
	CA	17	34	51	
	AA	2	7	9	
	Total	45	113	158	
	χ^2 (H-W)	0,141	1,145		
	Alelos				p''
	C	69	178	247	0,684
	A	21	48	69	
	Total	90	226	316	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Nos resultados da tabela 17 podemos ver que também não foi encontrada uma associação significativa nas análises genotípicas e alélicas da comparação entre os grupos Cap e HBP com a variante *rs16260* ($p=0,875$ e $p=0,621$ respectivamente).

Tabela 17. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *rs16260* do gene *CDH1* entre os grupos CAP e HBP

dbSNP ID	Genótipo	CAP	HBP	Total	<i>p'</i>
rs16260	CC	26	70	96	0,875
	CA	17	54	71	
	AA	2	7	9	
	Total	45	131	176	
	χ^2 (H-W)	0,141	0,688		
	Alelos				<i>p''</i>
	C	69	194	263	0,621
	A	21	68	89	
	Total	90	262	352	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. *p''* é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Em relação ao teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (χ^2) todos os grupos se encontram em equilíbrio genético.

5.6 Análise molecular do polimorfismo *rs1042522* do gene *TP53*

Para a associação da variante *rs1042522* com as patologias abordadas foram realizadas as distribuições genotípicas e alélicas em 289 amostras sendo 131 HBP, 45 Cap e 113 controles, além de ter sido realizado o teste de Hardy-Weinberg para verificação do equilíbrio genético da amostra.

Tanto na análise genotípica quanto na alélica, não foi encontrada associação significativa da variante *rs1042522* com o grupo HBP ($p=0,920$ e $p=0,680$ respectivamente) (tabela 18).

Tabela 18. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *rs1042522* do gene *TP53* para o grupo HBP

dbSNP ID	Genótipo	HBP	Controle	Total	p'
rs1042522	CC	62	52	114	0,920
	CG	20	16	31	
	GG	49	45	94	
	Total	131	113	244	
	χ^2 (H-W)	62,662	57,885		
	Alelos				
	C	144	120	264	0,680
	G	118	106	224	
	Total	262	226	488	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Na tabela 19 podemos observar que para o grupo CaP, também não foi encontrada associação nas análises genotípica e alélica com a variante *rs1042522* ($p=0,960$ e $p=0,828$ respectivamente).

Tabela 19. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo *rs1042522* do gene *TP53* para o grupo CAP

dbSNP ID	Genótipo	CaP	Controle	Total	p'
rs1042522	CC	21	52	73	0,960
	CG	7	16	23	
	GG	17	45	62	
	Total	45	113	158	
	χ^2 (H-W)	21,202	57,885		
	Alelos				
	C	49	120	169	0,828
	G	41	106	147	
	Total	90	226	316	

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

Na comparação entre os grupos Cap e HBP também não foi encontrada uma associação significativa nas análises genóticas e alélicas com esta variante ($p=0,997$ e $p=0,933$ respectivamente) (tabela 20).

Tabela 20. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1042522 do gene *TP53* entre os grupos HBP e CAP

dbSNP ID	Genótipo	CaP	HBP	Total	p'
rs1042522	CC	21	62	83	0,997
	CG	7	20	27	
	GG	17	49	66	
	Total	45	131	176	
	χ^2 (H-W)	21,202	62,662		
	Alelos				p''
	C	49	144	193	0,933
	G	41	118	159	
Total	90	262	352		

Nota: χ^2 é o valor obtido após o teste realizado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W). p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica entre os grupos. p'' é o valor de significância na comparação alélica entre os grupos. Fonte: elaborada pelo autor.

A respeito do teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (p) nenhum dos grupos se encontra em equilíbrio genético.

5.7 Análise entre genótipo e fenótipo com as variáveis qualitativas

A partir das amostras coletadas, foram feitas também, análises das variáveis qualitativas para demonstrar quais delas poderiam apresentar um risco nos polimorfismo, em relação às doenças estudadas. As variáveis consideradas foram cor, tabagismo, etilista, atividade física, obesidade, hipertensão, diabetes e antecedente familiar.

No grupo CaP com o polimorfismo rs16260 do gene *CDH1*, a variável obesidade mostrou um risco 7,0 vezes maior para genótipo CC em

comparação com CA+AA (tabela 21). Neste polimorfismo, o alelo variante é o A.

Tabela 21. Análise de risco da variável qualitativa obesidade para o polimorfismo rs16260 do gene *CDH1* no grupo Cap

<i>CDH1</i>	Obesidade		Total	p'	OR
	Sim	Não			
CC	2	14	16	0,045	7,00
CA+AA	4	4	8		
Total	6	18	24		

Nota: p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

As análises de portadores do polimorfismo rs1042522 do gene *TP53* que eram tabagistas do grupo HBP revelou um risco 3,50 vezes maior dos portadores do genótipo homocigoto selvagem CC, em relação ao GG+CG de expressar ao HBP (tabela 22).

Tabela 22. Análise de risco da variável qualitativa tabagismo para o polimorfismo rs1042522 do gene *TP53* no grupo HBP

<i>TP53</i>	Tabagismo		Total	p'	OR
	Sim	Não			
CC	8	54	62	0,004	3,50
CG+GG	27	52	79		
Total	35	106	141		

Nota: p' é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

A análise da variável hipertensão, em relação aos genótipos homocigotos nulo e não nulo, do gene *GSTT1*, revelou um risco 2,35 vezes maior de portadores do genótipo homocigoto nulo (variante) quando comparado aos portadores de um ou dois alelos não nulos, para o grupo HBP (tabela 23).

Tabela 23. Análise de risco da variável qualitativa hipertensão para os genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1* no grupo HBP

<i>GSTT1</i>	Hipertensão		Total	<i>p'</i>	OR
	Sim	Não			
Nulo	12	16	28	0,044	2,35
N-Nulo	67	38	105		
Total	79	54	133		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

Em relação às análises do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1*, os portadores do genótipo homocigoto selvagem AA apresentaram um risco 4,95 vezes maior de apresentar a diabetes, quando comparados com portadores do genótipo GG+AG, no grupo HBP (tabela 24).

Tabela 24. Análise de risco da variável qualitativa diabetes para o polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* no grupo HBP

<i>CYP1A1</i>	Diabetes		Total	<i>p'</i>	OR
	Sim	Não			
AA	5	3	8	0,022	4,95
AG+GG	31	92	123		
Total	36	95	131		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

Ainda no grupo HBP, a análise da variável antecedente familiar mostrou um risco 2,57 vezes maior de desenvolver a HBP entre os portadores dos genótipos AA+AG do polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1*, em comparação aos portadores do genótipo homocigoto mutante GG (tabela 25).

Tabela 25. Análise de risco da variável qualitativa antecedente familiar para o polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* no grupo HBP

<i>CYP1A1</i>	Antec. Familiar		Total	<i>p'</i>	OR
	Sim	Não			
AA+AG	55	41	96	0,030	2,37
GG	13	23	36		
Total	68	64	132		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

Na associação entre os grupos CaP e HBP e a variável hipertensão, os portadores do genótipo homozigoto nulo do gene *GSTT1* apresentaram um risco 1,75 vezes maior de apresentar hipertensão, quando comparados aos portadores de pelo menos um alelo não nulo (tabela 26).

Tabela 26. Análise de risco da variável qualitativa hipertensão para os genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1* entre os grupos CaP e HBP

<i>GSTT1</i>	Hipertensão		Total	<i>p'</i>	OR
	Sim	Não			
Nulo	13	18	31	0,018	1,75
N-Nulo	82	44	126		
Total	95	62	157		

Nota: *p'* é o valor de significância na comparação da distribuição genotípica nesta variável. OR é o valor do Odds ratio. Fonte: elaborada pelo autor.

6 Discussão

Considerando que o CaP é o segundo tipo de câncer que mais causa óbitos entre os homens no Brasil, é relevante procurar entender as causas dessa frequência, visto que as chances de cura desta doença são altas quando diagnosticada precocemente. Dito isso, é fundamental que os esforços para redução deste valor se concentrem não só na conscientização da realização de exames periódicos, mas na realização de estudos que se proponham a buscar

variações genéticas associadas com o risco de desenvolver as doenças, melhorando métodos de rastreio na população masculina.

Em nossa análise descritiva as variáveis idade, PSA total, PSA livre, volume da próstata e peso da próstata mostraram diferenças estatísticas significativas entre os grupos selecionados. Na verificação das diferenças de médias, o CaP mostrou diferenças significantes nas variáveis PSA total e PSA livre, onde suas médias são maiores neste grupo quando comparadas com os grupos HBP e controle. Já no grupo controle, as variáveis que apresentaram diferenças significativas foram idade, peso da próstata e volume da próstata, sendo suas médias menores neste grupo, em comparação com o CaP e a HBP.

Essa diferença nas médias de algumas variáveis pode estar relacionada aos diferentes N de cada grupo, principalmente o do grupo do câncer de próstata.

Desde o início dos estudos de associação ampla do genoma (GWAS), diversos grupos têm se dedicado a investigar a associação de polimorfismos com o risco de doenças complexas. Até hoje, mais de 100 SNPs já foram consistentemente associados com o risco de CaP, estando localizados em diversas regiões do genoma (Schumacher *et al.*, 2018). Com a HPB há poucos trabalhos realizados, mas pelo menos 20 SNPs já foram relacionados nos estudos de GWAS com o aumento de suscetibilidade a esta patologia (Gudmundsson *et al.*, 2018). Ainda se fazem necessários mais estudos, com maior abrangência de genes e de número amostral, além de diferentes populações para compreendermos melhor a participação das alterações genéticas com o desenvolvimento dessas patologias. Dentro de diversos genes com vias biológicas importantíssimas, selecionamos quatro SNPs para avaliar sua potencial associação com o CaP e a HBP.

A primeira variante de sequência analisada em nosso estudo foram os genótipos nulo (-) e não nulo (+) do gene *GSTT1*, localizado no cromossomo 22q11.23. Este gene atua na II fase de desintoxicação de agentes cancerígenos derivados do meio ambiente, tendo como principal função a metabolização de dihalometanos, evitando assim, danos ao DNA (Morais *et al.*, 2008). O genótipo nulo deste gene é caracterizado pela ausência da proteína

Glutathione S-Transferase Theta1 ou por sua não funcionalidade, pois ocorre uma deleção da citosina (C) impedindo a formação do aminoácido arginina na posição 188 desta proteína (R188*).

O genótipo homozigoto nulo do gene *GSTT1* foi observado tanto no grupo controle (22 indivíduos - 20,37% do total do grupo), quanto em pacientes com HBP (26 indivíduos- 19,70% do total do grupo), e nos que apresentam o CaP (8 indivíduos - 17,78% do total do grupo).

A literatura mostra que o genótipo nulo deste gene tem associação com o câncer de próstata em diferentes grupos étnicos, e também com outros cânceres, como mama e pulmão, sugerindo que ele atua aumentando o risco de desenvolver estas patologias (Gong *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014; Emeville *et al.*, 2014). Contudo, corroborando os nossos resultados, Malik e colaboradores (2015) investigaram 350 indivíduos paquistaneses com CaP, e não encontram associação deste polimorfismo com a doença. Benabdlkrim e colaboradores (2018) também observaram que o genótipo nulo de *GSTT1* não pareceu contribuir para o risco de CaP em uma população argelina. Um resultado interessante foi encontrado por Medeiros e colaboradores (2004) que, apesar de não terem encontrado associação com o CaP, eles observaram que este gene foi super-representado em homens com CaP avançado, em uma população do sul da europa.

Em nosso estudo não foi observada a associação dos genótipos homozigoto nulo e heterozigoto/homozigoto não nulo de *GSTT1* com HBP ($p=0,897$) ou CaP ($p=0,713$) e nem na associação entre as patologias ($p=0,778$). Os resultados citados podem indicar que a incidência dos diferentes genótipos do gene *GSTT1* no CaP pode depender de fatores étnico-geográficos, uma vez que os resultados mostram variações entre as diferentes populações.

Nas análises de associação fenótipo-genótipo do gene *GSTT1*, a variável qualitativa hipertensão (2,35 vezes mais) mostrou aumentar o risco da HBP em portadores do genótipo homozigoto nulo deste gene, em nossa amostra. Esses resultados podem ser de grande valia para um melhor entendimento desta associação, pois essas variáveis ainda não foram relacionadas com a HBP em outros estudos. Apesar de termos encontrado a associação com a HBP, um estudo mostrou que o tabagismo já foi relacionado

a este gene, porém, em uma interação com o CaP, e ainda que tenham considerado que o mecanismo dessa interação seja pouco conhecido, consideraram que o tabagismo associado ao metabolismo de intermediários carcinogênicos pode modificar o risco do CaP em portadores de genótipos distintos do gene *GSTT1* (Kelada *et al.*, 2000). Este resultado encontrado por Kelada e colaboradores (2000) pode ser, também, um indicativo da relação da variável tabagismo com o HBP, pois essas doenças possuem uma relação, ainda que não se tenha detalhes sobre.

Analizamos também a região do DNA que abrange o polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* que está localizado no cromossomo 15q24.1 e codifica uma enzima do citocromo P-450 de fase I. Esta enzima converte pró carcinógenos ambientais em intermediários reativos com efeitos carcinogênicos, e está envolvida no metabolismo oxidativo de esteroides, onde os estrogênios foram sugeridos como tendo um papel crítico na etiologia do CaP, e também, tem função na oxidação de ácidos graxos e xenobióticos (Chang *et al.*, 2003). O Aril hidrocarbonte (AhR) é bastante associado a este gene, pois enzimas do sistema citocromo P450 1A1 tem sua expressão induzida pela via de sinalização de seu receptor e o AhR foi sugerido como capaz de modular outros processos celulares, além da desintoxicação xenobiótica, como desenvolvimento, diferenciação, proliferação, e apoptose (Rubio-Lightbourn e Espinosa-Aguirre, 2016).

Esse polimorfismo é representado pela substituição de uma adenina por uma guanina (c.1355A>G) e foi encontrado em 34 indivíduos do grupo controle (sendo 2,95% de heterozigoto e 97,05% de homozigotos), 81 do grupo HBP (sendo 71,60% heterozigotos e 28,40% homozigotos) e 17 do grupo CaP (100% homozigotos).

Em uma amostra de pacientes do Japão, pesquisadores encontraram resultados interessantes a respeito dessa variante com o CaP, sugerindo que os indivíduos que apresentam genótipo AG ou GG possuem risco 2,86 vezes maior de desenvolver a neoplasia quando comparados com indivíduos saudáveis (AA) (Koda *et al.*, 2017). Abdel-Razzak e colaboradores (2015) também associaram a variante rs1379298245 a esta neoplasia, ao analisar 40 amostras de tecido sanguíneo provenientes de pacientes com CaP. Por outro

lado, o estudo realizado em 2016 por Sissung e pesquisadores avaliaram indivíduos caucasianos com CaP e não observaram a associação deste polimorfismo com a doença. Em nosso estudo a associação deste polimorfismo rs1379298245 foi observada na análise genotípica e alélica do grupo HBP ($p=0,000$ e $p=0,000$ respectivamente), CaP ($p=0,050$ e $p=0,000$ respectivamente) e na comparação entre as patologias houve associação significativa na análise genotípica ($p=0,000$). Esses resultados sugerem forte associação do polimorfismo analisado com as patologias em questão.

Nas análises OR alélicas o alelo mutado (G) se mostrou como alelo de risco para o CaP (6,51 vezes mais), para a HBP (3,92 vezes mais), e entre o CaP e o HBP (1,67 vezes mais) em relação ao selvagem (A). Corroborando nossos resultados, outros estudos também indicaram o alelo G como o de risco para o CaP, neste polimorfismo (Chang *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2012; koda *et al.*, 2017).

Nas análises de associação genótipo e fenótipo do presente estudo, as variáveis diabetes e antecedente familiar mostraram aumentar o risco da HBP em portadores dos genótipos AA (4,5 vezes) e AA+AG (2,37 vezes), respectivamente. Estas associações ainda não foram descritas em outros estudos, sendo assim, este é o primeiro estudo que encontra associação destas variáveis com o polimorfismo rs1379298245, o que pode ser um ponto de partida para futuras pesquisas que investiguem mais profundamente essas relações.

Foi analisado, também, o polimorfismo rs16260 presente no gene *CDH1*. Tal gene se localiza no cromossomo 16q22.1 e codifica uma glicoproteína transmembrana de adesão (*E-caderina*), que medeia a adesão célula-célula dependente de cálcio, estabelece e mantém a polaridade celular e a arquitetura do tecido (Qiu *et al.*, 2009). Acredita-se que o *CDH1* possa desempenhar um papel na iniciação e progressão do tumor, pois a perda da expressão deste gene estaria diretamente ligada à disfunção do sistema de adesão célula-célula, levando ao estado invasivo e metastático de tumores, sendo considerado um importante gene supressor de tumor (Bonilla *et al.*, 2006). Tal polimorfismo é causado pela troca de uma citosina por uma adenina (C>A), e foi encontrado em 41 indivíduos do grupo controle (sendo 82,93% de heterozigoto e 17,07% de homozigotos), 61 do grupo HBP (sendo 88,52%

heterozigotos e 11,48% homozigotos) e 19 do grupo CaP (89,47% de heterozigotos e 10,53% homozigotos).

Deng e colaboradores (2014) realizaram uma meta-análise, com 57 estudos, pois viram que estudos publicados sobre a associação de polimorfismos do gene *CDH1*, com o risco de Câncer, permanecem contraditórios, devido a diferenças nos hábitos de vida e antecedentes genéticos, e concluíram que o polimorfismo em questão está significativamente associado ao câncer, onde o alelo -160A (CA+AA) apresentou risco elevado em relação ao câncer de próstata. Um estudo, realizado para analisar a contribuição do polimorfismo de nucleotídeo único do *CDH1 rs16260* (-160 C/A) para a suscetibilidade ao CaP na população de Bangladesh, mostrou que o polimorfismo em questão está associado ao aumento de risco de desenvolver a doença em tal população, sendo que o genótipo CA heterozigoto e os genótipos CA + AA combinados mostraram 2,10 vezes e 2,08 vezes mais risco de CaP, respectivamente, quando comparado com genótipos CC homozigotos (IMTIAZ *et al.*, 2019). Alguns autores sugerem que o polimorfismo -160(C/A) pode estar relacionado, também, com outros tipos canceres, tais como, câncer colorretal em britânicos, gástrico em chineses e adenocarcinoma de pulmão em chineses de Taiwan (Pittman *et al.*, 2009; Zhan *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2018). Em nosso estudo, não foi observada a associação do polimorfismo rs16260 com o desenvolvimento da HBP ($p=0,195$ e $p=0,222$) ou CaP ($p=0,623$ e $p=0,684$), e nem na comparação entre as patologias ($p=0,875$ e $p=0,621$), tanto na análise da frequência genotípica, quanto na alélica, respectivamente. Estudos complementares aos nossos, com um maior número amostral, principalmente do grupo CaP, seriam de grande valia para que se tenha um melhor entendimento sobre essa associação na nossa população, que se mostra como uma população com grande miscigenação.

Nas análises de associação entre genótipo e fenótipo, para estimar os possíveis riscos de variáveis qualitativas em portadores do polimorfismo nas patologias abordadas, apenas a variável obesidade mostrou aumentar o risco, em portadores do genótipo CC (7,0 vezes mais), e apenas no grupo CaP, em nossa amostra. Estudos recentes mostram que a obesidade representa um fator fortemente associado ao CaP, e apesar de não falarem sobre uma ligação direta do polimorfismo rs16260 com o CaP, o gene *CDH1* sugere estar

envolvido nesta associação da obesidade com o câncer de próstata (Bhagirath e Saini, 2019; Wade e Kyprianou, 2019).

Seguindo os experimentos, fizemos a análise do polimorfismo rs1042522 (Pro72Arg) do gene *TP53* localizado no cromossomo 17p13.1, onde ocorre uma substituição de um único par de bases, no códon 72, resultando na substituição do aminoácido Pro72 pelo aminoácido Arg72 na proteína codificada pelo alelo mutante (Thomas *et al.*, 1999; Asadi *et al.*, 2017). Tal gene codifica um fator de transcrição de fosfoproteína (P53) que desempenha um papel importante na parada do ciclo celular e na apoptose, onde na fase G1 do ciclo celular, a ativação de P53, em resposta ao dano ao DNA, leva ao reparo do DNA, ou inicia a maquinaria de morte celular, resultando em apoptose (Robles e Harris, 2001; Xu *et al.*, 2010). Atua também como supressor de tumor. Este polimorfismo resulta da troca de uma citosina por uma guanina (c.215C>G), e foi encontrado em 61 indivíduos do grupo controle (sendo 26,23% de heterozigotos e 73,77% de homozigotos), 69 do grupo HBP (sendo 28,99% heterozigotos e 71,01% homozigotos) e 24 do grupo CaP (sendo 29,17% de heterozigotos e 70,83% homozigotos).

Em amostras da população do sul da China (Xu *et al.*, 2010) e do Paquistão (Khan *et al.*, 2014) foram encontradas associações positivas do polimorfismo em questão com as patologias de interesse, sendo que, na população do Paquistão, observou-se que o alelo G está altamente associado ao risco aumentado de adenocarcinoma de próstata. Já Fan e colaboradores (2017), realizaram uma meta-análise com 17 estudos, para investigar se o polimorfismo de interesse confere suscetibilidade ao Câncer de Próstata, onde não foi encontrada associação significativa do polimorfismo rs1042522, do gene *TP53* com o CaP na população geral. A partir de nossas análises, também não foi observada associação significativa do polimorfismo rs1042522, tanto na análise genotípica quanto na alélica, para os grupos HBP ($p=0,920$ e $p=0,680$ respectivamente), CaP ($p=0,960$ e $p=0,828$ respectivamente) e na comparação entre as patologias ($p=0,997$ e $p=0,933$ respectivamente), sugerindo que essa associação pode estar relacionada a populações com características específicas.

Nas análises realizadas entre genótipo e fenótipo utilizando variáveis qualitativas, foi observado o aumento de risco dos portadores do genótipo CC

(3,50 vezes maior) apenas em relação a variável tabagismo, e somente para o desenvolvimento da HBP. Ainda não foram publicados estudos que relacionem diretamente esta variável com a HBP, tornando este resultado de grande valia para o melhor entendimento da associação do tabagismo com o HBP e evidencia a importância e a necessidades de mais estudos sobre a HBP.

A falta de relação dos genótipos nulo e não nulo do gene *GSTT1*, e dos polimorfismos rs16260 e rs1042522 com o CaP ou a HPB pode ter sido causada pelas diferenças étnicas entre os grupos amostrais dos outros estudos quando comparados ao do presente estudo, levando em consideração, que a população de brasileiros analisada é bastante miscigenada.

A associação encontrada entre o polimorfismo do gene *CYP1A1* e o CaP e a HBP deve ser observada com cautela, pois os testes, apesar de bastante significativos, mostraram que as distribuições genotípicas e alélicas não estão em equilíbrio nos grupos, mesmo após repetidos testes terem sido feitos para este polimorfismo, e a enzima de restrição ter sido testada em outro polimorfismo, comprovando os resultados obtidos. Mas ainda assim, esse resultado é interessante, podendo indicar essa variante como fator preditivo para o CaP.

7 Conclusão

Neste estudo analisamos polimorfismos e suas possíveis relações com o CaP e a HBP, em uma amostra da população do Rio de Janeiro, podendo assim, contribuir para uma melhor compreensão da influência dessas variantes nas patologias estudadas, auxiliar na descoberta de uma possível suscetibilidade dos indivíduos ao CaP, de possíveis diferentes abordagens terapêuticas e até mesmo contribuir para obtenção de novas formas de diagnóstico.

- Os genótipos nulo e não nulo (-/+) do gene *GSTT1* parecem não apresentar associação significativa com o CaP, o HBP e entre as duas doenças.
- Os polimorfismos rs16260 do gene *CDH1*, rs1042522 do gene *TP53* parecem não estar associados com o desenvolvimento do CaP, ou da HBP em nosso estudo.

- O polimorfismo rs1379298245 do gene *CYP1A1* apresentou associação genotípica e alélica positivas com o CaP e a HBP. O alelo G deste mesmo polimorfismo sugere representar um fator de risco para o desenvolvimento do CaP e HBP, entretanto esses resultados devem ser interpretados com muito cuidado, fazendo-se necessários futuros estudos confirmar estes achados, uma vez que os testes de Hardy-Weinberg mostraram que as frequências genotípicas e alélicas não se encontram em equilíbrio na população estudada .
- O fenótipo de obesidade parece aumentar significativamente o risco de CaP em portadores do genótipo CC do polimorfismo rs16260 (*CDH1*).
- O fenótipo de tabagismo parece aumentar significativamente o risco de HBP em portadores do genótipo CC do polimorfismo rs1042522 (*TP53*).
- Os fenótipos hipertensão e tabagismo parecem aumentar significativamente o risco de HBP em portadores do genótipo nulo.
- O fenótipo de diabetes parece aumentar significativamente o risco de HBP em portadores do genótipo AA do polimorfismo rs1379298245 (*CYP1A1*).
- O antecedente familiar sugere aumentar significativamente o risco de HBP em portadores dos genótipos AA+AG, do polimorfismo rs1379298245 (*CYP1A1*).
- O fenótipo de hipertensão sugere aumentar significativamente o risco de CaP e HBP em portadores do genótipo nulo do gene *GSTT1*.

Vale ressaltar que mais estudos, em diferentes populações e com um maior número amostral, são necessários para que se tenha uma melhor compreensão do impacto destas variantes genômicas para o desenvolvimento de doenças complexas como o CaP e a HPB.

8 Referências

ABDEL-RAZZAK, Ziad; AL-ATTRACHE, Houssein; RAMMAL, Ghina .Association of CYP1A1 and CYP2E1 gene polymorphisms with prostate

cancer in a Lebanese population. *International Research Journal of Public and Environmental Health*, v. 2, n. 10, p. 135-43, 2015.

AGGARWAL, Bharat B. et.al. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical pharmacology*, v. 72, n. 11, p. 1605-1621, 2006.

AL ZOUBI, MazharSalim et al. TP53, SPOP and PIK3CA Genes Status in Prostate Cancer. ***Asian Pacific Journal of Cancer Prevention***, v. 21, n. 11, p. 3365-3371, 2020.

ALBERTS, et al. *Biologia Molecular da Célula*.6ª ed. Artmed, cap.20, pg. 1.091-1.143, 2010.

ALCARAZ, Antonio et al. Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? Findings of a literature review. ***European urology***, v. 55, n. 4, p. 864-875, 2009.

American Cancer Society - ACS (2016). *Cancer Facts & Figures 2016*.Atlanta: American Cancer Society; 2016. Disponível em <https://www.cancer.org/>.

ARJONA, M. F.; SANZ, I. P. Hiperplasia benigna de próstata: una afección de elevada prevalencia en el paciente de edad avanzada. ***Revista Española de Geriatría y Gerontología***, v. 43, p.44-51, 2008.

ASADI, M. et al. TP53Gene Pro72Arg (rs1042522) Single Nucleotide Polymorphism as Not a Risk Factor for Colorectal Cancer in the Iranian Azari Population. ***Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP***, v. 18, n. 12, p. 3423, 2017.

BARRY, M. J. et al. Prevention of Prostate Cancer Morbidity and Mortality: Primary Prevention and Early Detection. ***Medical Clinics of North America***, v. 101, p. 787-806, jul 2017.

BARRY, M. J. et al. The American Urological Association symptom index for benign prostatic hyperplasia. ***The Journal of urology***, v. 148, n. 5 Part 1, p. 1549-1557, 1992

BARTLETT, J. M. S.; STIRLING, D. PCR Protocols. **Methods in Molecular Biology**, v. 226, 2003.

BENABDELKRIM, Maroua; DJEFFAL, Omar; BERREDJEM, Hajira. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer: a case-control study of the Algerian population. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 19, n. 10, p. 2853, 2018.

BHAGIRATH, D.; SAINI, S. Coping with chemoresistance in prostate cancer—co-targeting of adipose stromal cells?. **Translational andrology and urology**, v. 8, n. Suppl 3, p. S250, 2019.

BONILLA, Carolina et al. E-cadherin polymorphisms and haplotypes influence risk for prostate cancer. **The Prostate**, v. 66, n. 5, p. 546-556, 2006.

BOSTWICK, David G. et al. Human prostate cancer risk factors. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 101, n. S10, p. 2371-2490, 2004.

CAMPÁ, J. et al. Advanced prostate cancer survival in Spain according to the Gleason score, age and stage. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*, v. 40, n. 8, p. 499-506, 2016.

CASTANHO, M. J. P. Construção e Avaliação de um Modelo Matemático para Predizer a Evolução do Câncer de Próstata e Descrever seu Crescimento Utilizando a Teoria dos Conjuntos Fuzzy. Tese de Doutorado, FEEC-Unicamp, Campinas-SP, 2005.

CHANG, B. et al. Polymorphisms in the CYP1A1 gene are associated with prostate cancer risk. **International journal of cancer**, v. 106, n. 3, p. 375-378, 2003.

CHANG, Bao-li et al. Polymorphisms in the CYP1A1 gene are associated with prostate cancer risk. **International journal of cancer**, v. 106, n. 3, p. 375-378, 2003.

CHUGHTAI, Bilal et al. Benign prostatic hyperplasia. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 16031, 2016.

CYBULSKI, C.; WOKOLORCZYK, D.; KLUZNIAK, W.; et al. A personalized approach to prostate cancer screening based on genotyping of risk founder alleles. **BJC**, v.108, p.2601-2609, 2013.

DENG, Qi-Wen et al. Roles of E-cadherin (CDH1) genetic variations in cancer risk: a meta-analysis. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 8, p. 3705-3713, 2014.

DORNAS, M. C. et al. Câncer de Próstata. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, UERJ Ano 7, jan-jun, 2008.

EMEVILLE, Elise et al. Copy number variation of GSTT1 and GSTM1 and the risk of prostate cancer in a Caribbean population of African descent. **Plos One**, v. 9, n. 9, p. e107275, 2014.

FAN, Song et al. Association between the rs1042522 polymorphism in TP53 and prostate cancer risk: An updated meta-analysis. **Chronic diseases and translational medicine**, v. 3, n. 2, p. 95-104, 2017.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International journal of cancer**, v.136, n.5, 2015.

GONG, Mancheng et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 with prostate cancer risk: a meta-analysis of 57 studies. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e50587, 2012.

GUDMUNDSSON, J. et al. Genome-wide associations for benign prostatic hyperplasia reveal a genetic correlation with serum levels of PSA. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2018.

HAMMERICH, Kai H.; AYALA, Gustavo E.; WHEELER, Thomas M. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. **Cambridge University, Cambridge**, p. 1-10, 2009.

HANAHAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HARNDEN, Patricia et al. Should the Gleason grading system for prostate cancer be modified to account for high-grade tertiary components? A systematic review and meta-analysis. *The lancet oncology*, v. 8, n. 5, p. 411-419, 2007.

HOLLSTEIN, M. et al. Base changes in tumour DNA have the power to reveal the causes and evolution of cancer. *Oncogene*, v. 36, n. 2, p. 158, 2017.

HUANG, Chun-Yao et al. Correlation of E-cadherin gene polymorphisms and epidermal growth factor receptor mutation in lung adenocarcinoma. **International journal of medical sciences**, v. 15, n. 8, p. 765, 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2013. Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 10 ago 2019.

IMTIAZ, Hasnain et al. Genetic polymorphisms in CDH1 and Exo1 genes elevate the prostate cancer risk in Bangladeshi population. **Tumor Biology**, v. 41, n. 3, p. 1010428319830837, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA ,2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>> Acesso em: 23 fev2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA ,2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>> Acesso em: 27 mar2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA ,2018. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata>> Acesso em: 17 abr2019.

INSTITUTO ONCOGUIA, 2015. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/terapia-alvo/7210/840/>> Acesso em: 24 jul 2019.

INSTITUTO ONCOGUIA, 2018. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/entendendo-o-funcionamento-dos-medicamentos-quimioterapicos/3703/593/>> Acesso em: 28 jun 2019.

JAMES, Nicholas D. et al. Addition of docetaxel, zoledronic acid, or both to first-line long-term hormone therapy in prostate cancer (STAMPEDE): survival results from an adaptive, multiarm, multistage, platform randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 387, n. 10024, p. 1163-1177, 2016.

JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, v.61, n.2, p.69-90, 2011.

JORDAN, Mary Ann et al. Mitotic block induced in HeLa cells by low concentrations of paclitaxel (Taxol) results in abnormal mitotic exit and

JORISSEN, Robert N. et al. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. In: **The EGF receptor family**. Academic Press, 2003. p. 33-5

KELADA, S.N. et al. The glutathione S-transferase- μ and- θ genotypes in the etiology of prostate cancer: genotype-environment interactions with smoking. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 9, n. 12, p. 1329-1334, 2000.

KEMPKES, M. et al. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 null genotypes as potential risk factors for urothelial cancer of the bladder. *Archives of toxicology*, v. 71, n. 1-2, p. 123-126, 1996.

KHAN, Mohammad Haroon et al. Associação do polimorfismo rs1042522 com risco aumentado de adenocarcinoma da próstata na população do Paquistão e sua revisão HuGE. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 9, pág. 3973-3980, 2014.

KODA, M. et al. Association between NAT2, CYP1A1, and CYP1A2 genotypes, heterocyclic aromatic amines, and prostate cancer risk: a case control study in

Japan. **Environmental health and preventive medicine**, v. 22, n. 1, p. 72, 2017.

Lee, K.L., Peehl, D.M. Molecular and cellular pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. **J Urol**, 2004;172:1784-91.

LI, H. et al. Association of CYP1A1 polymorphisms with prostate cancer risk: an updated meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 12, p. 10273-10284, 2012.

LIU, Dajun et al. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and prostate cancer risk in Asians: a systematic review and meta-analysis. **Tumor Biology**, v. 34, n. 5, p. 2539-2544, 2013.

MACLENNAN, Gregory T. et al. The influence of chronic inflammation in prostatic carcinogenesis: a 5-year follow up study. *The Journal of urology*, v. 176, n. 3, p. 1012-1016, 2006.

MALIK, Saima S. et al. Prostate cancer and glutathione S-transferase deletions. **EXCLI journal**, v. 14, p. 1049, 2015.

MEDEIROS, R. et al. Metabolic susceptibility genes and prostate cancer risk in a southern European population: the role of glutathione S-transferases GSTM1, GSTM3, and GSTT1 genetic polymorphisms. **The Prostate**, v. 58, n. 4, p. 414-420, 2004.

MILLER, Gary J.; TORKKO, Kathleen C. Natural history of prostate cancer--epidemiologic considerations. **Epidemiologic reviews**, v. 23, n. 1, p. 14-18, 2001.

MORAIS, C. C. et al. Polimorfismo genético e sua influência nos efeitos tóxicos dos medicamentos. **Centro Universitário São Camilo**, 2015.

MORAIS, L. M. et al. Polymorphisms GSTM1 and GSTT1 and sporadic breast cancer mammographic features. **Revista da Associação Médica Brasileira (1992)**, v. 54, n. 1, p. 61-66, 2008.

MURAD, André Márcio; KATZ, Artur. Oncologia: bases clínicas do tratamento. In: **Oncologia: bases clínicas do tratamento**. 1996.

NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2019. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/types/prostate/patient/prostate-treatment-pdq>> Acesso em: 28 jun 2019.

OVALLE, William K.; NAHIRNEY, Patrick C. Netter's Essential Histology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2013.

PAVAN, M. G.; MONTEIRO, F. A. Técnicas moleculares aplicadas à sistemática e ao controle vetorial. **GALVAO C, Organizador. Vetores da Doença de Chagas no Brasil. Sociedade Brasileira de Zoologia, Série Zoologia: Guias e Manuais de Identificação. Curitiba, Brasil, p. 241-260, 2014.**

PITTMAN, Alan M. et al. The CDH1-160C> A polymorphism is a risk factor for colorectal cancer. **International journal of cancer**, v. 125, n. 7, p. 1622-1625, 2009.

PORTER, Timothy R. et al. Contribution of cyclin d1 (CCND1) and E-cadherin (CDH1) polymorphisms to familial and sporadic colorectal cancer. **Oncogene**, v. 21, n. 12, p. 1928-1933, 2002.

QIU, Li-Xin et al. The E-cadherin (CDH1)- 160 C/A polymorphism and prostate cancer risk: a meta-analysis. **European Journal of Human Genetics**, v. 17, n. 2, p. 244-249, 2009.

ROBINSON, Stephen C.; COUSSENS, Lisa M. Soluble mediators of inflammation during tumor development. In: *Advances in cancer research*. Academic Press, 2005. p. 159-187.

ROBLES, I., CURTIS, C. HARRIS, Ana. p53-mediated apoptosis and genomic instability diseases. **Acta oncologica**, v. 40, n. 6, p. 696-701, 2001.

ROCHA, A. P. et al. Polimorfismos Genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, n. 5, p. 723-730, 2007.

ROEHRBORN, C.G., McConnell J.D. Etiology, pathophysiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia. **Campbell's urology**. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins, 2002; 1297-1336.

ROGLER, Anja et al. P53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism and prostate cancer risk: association between disease onset and proline genotype. **Pathobiology**, v. 78, n. 4, p. 193-200, 2011.

SCHENK, Jeannette M. et al. Association of symptomatic benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: results from the prostate cancer prevention trial. **American journal of epidemiology**, v. 173, n. 12, p. 1419-1428, 2011.

SCHUMACHER, F. R. et al. Association analyses of more than 140,000 men identify 63 new prostate cancer susceptibility loci. **Nature genetics**, v. 50, n. 7, p. 928-936, 2018.

SIDDIQUI, Sameer A. et al. Impact of familial and hereditary prostate cancer on cancer specific survival after radical retro pubic prostatectomy. **The Journal of urology**, v. 176, n. 3, p. 1118-1121, 2006.

SIGMAALDRICH, 2016. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/>> Acesso em: 16 out 2019.

SILVEIRA, K.; Z Aidan, B. Intervenção prostática. Dr.Pixel. Campinas. 2018. Disponível em: <<https://www.fcm.unicamp.br/drpixel/conteudo/intervencao-prostatica>> Acesso em: 15 Abr2019.

SISSUNG, Tristan M. et al. Identification of novel SNPs associated with risk and prognosis in patients with castration-resistant prostate cancer. **Pharmacogenomics**, v. 17, n. 18, p. 1979-1986, 2016.

SROUGI, M. et al. Doenças da Próstata. **Rev Med (São Paulo)**, v.87, n.3, p.166-77, jul-set ,2008.

Thermo Fisher Scientific. TaqMan® SNP Genotyping Assays Protocol, 2017.

THOMAS, M. et al. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. **Molecular and cellular biology**, v. 19, n. 2, p. 1092-1100, 1999.

UMBREIT, E.; SHIMKO, M.; GETTMAN, M. Prostate Anatomy and Prostate Cancer Screening, Diagnosis, Staging, and Prevention. In: **Robotic Radiosurgery. Treating Prostate Cancer and Related Genitourinary Applications**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012. p. 29-40.

VIEIRA, B. D. P. Técnicas de PCR: aplicações e padronização de reações, 2011. Acesso em, 19.

VIEIRA, C. G.; ARAÚJO, W. S.; VARGAS, D. R. M. O homem e o câncer de próstata: Prováveis reações diante de um possível diagnóstico. **Revista Científico ITPAC**, v.5, n. 1, p. 1-9, 2012.

WADE, C. A.; KYPRIANOU, N. Adipose tissue: enabler of prostate cancer aggressive behavior. **Translational andrology and urology**, v. 8, n. Suppl 3, p. S242, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World Report on Ageing and Health**. Geneva, 2015.

XU, B. et al. Association between polymorphisms of TP53 and MDM2 and prostate cancer risk in southern Chinese. **Cancer genetics and cytogenetics**, v. 202, n. 2, p. 76-81, 2010.

XU, Bin et al. Association between polymorphisms of TP53 and MDM2 and prostate cancer risk in southern Chinese. **Cancer genetics and cytogenetics**, v. 202, n. 2, p. 76-81, 2010.

ZHAN, Zhen et al. CDH1 gene polymorphisms, plasma CDH1 levels and risk of gastric cancer in a Chinese population. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 8, p. 8107-8113, 2012.

ZHOU, Tian-Biao et al. GSTT1 polymorphism and the risk of developing prostate cancer. **American journal of epidemiology**, v. 180, n. 1, p. 1-10, 2014.

ANEXO A. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Unigranrio

Duque de Caxias, 23 de agosto de 2018

Do: Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO

Para Pesquisadora Principal: Tamara Silva

Para Orientadores: Prof. Dr. Pedro Hernán Cabello Acero

Prof. Dr. Paulo Emílio Correa Leite

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO, após avaliação considerou **aprovado** o projeto de pesquisa **“RASTREAMENTO DE MUTAÇÕES EM GENES ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA E DA HIPERPLASIA BENIGNA PROSTÁTICA E AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS QUANTO A EFICIÊNCIA E CITOTOXICIDADE DA DOXORRUBICINA”**, protocolado sob o número de CAAE 88510618.8.0000.5283, encontrando-se a referida pesquisa e o Termo de consentimento Livre e Esclarecido em conformidade com a Resolução N.º 466, de 12 de Dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

Os pesquisadores deverão informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética em Pesquisa solicita a V. Sª, que ao término da pesquisa, conforme cronograma apresentado, encaminhe a este comitê um sumário dos resultados do projeto, a fim de que seja expedido o certificado de aprovação final.



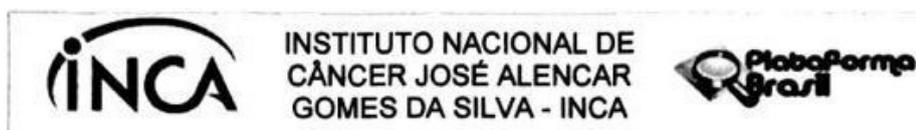
Prof. Renato C. Zambrotti
Coordenador do CEP-UNIGRANRIO



Andreia Peter Christo
Secretária do CEP/UNIGRANRIO

CEP/UNIGRANRIO – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA da UNIGRANRIO
Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – 25 de Agosto – Duque de Caxias – CEP: 25071-202
Tel.: 21 2672-7733 – E-mail: cep@unigranrio.com.br

ANEXO B. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Rastreamento de mutações em genes associados ao desenvolvimento do Câncer de Próstata e da Hiperplasia Benigna Prostática e avaliação de nanopartículas quanto a eficiência e citotoxicidade da doxorubicina.

Pesquisador: TAMARA SILVA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 5

CAAE: 88510618.8.3002.5274

Instituição Proponente: Coordenação de Pesquisa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.659.168

Apresentação do Projeto:

Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA nº 3.410.724 de 25/06/2019.

Objetivo da Pesquisa:

Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA nº 3.410.724 de 25/06/2019.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA nº 3.410.724 de 25/06/2019.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de resposta ao Parecer Consubstanciado CEP/INCA nº 3.639.061 de 14/10/2019

Estudo exploratório para investigar a associação de polimorfismos genéticos (SNP) com o

Endereço: RUA DO RESENDE, 128 - SALA 204			
Bairro: CENTRO		CEP: 20.231-092	
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO		
Telefone: (21)3207-4550	Fax: (21)3207-4556	E-mail: cep@inca.gov.br	

Continuação do Parecer: 3.659.168

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 24 de Outubro de 2019

Assinado por:
Carlos Henrique Debenedito Silva
(Coordenador(a))

Anexo C. Questionário de histórico clínico do paciente



Questionário de Histórico Clínico do Paciente

“Análise de fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento do Câncer de Próstata e Hiperplasia Benigna Prostática”

Data da Coleta: / /

Nome:		Número de Prontuário:	
Nascimento: / /	Idade: anos	Raça: () Branca () Parda () Negra	
Estado Civil: () Solteiro () Casado () Divorciado () Viúvo			
Escolaridade: () 0 () 1-4 () 5-8 () 9-12 () mais de 12 anos. Profissão:			
Grupo Amostral:			
Queixa Principal:			
OBS:			
Medicamentos Usados:			
Alergias: () Não () Sim Qual?			
Tabagista: () Não () Sim		Etilista: () Não () Sim	
Atividade Física: () Não () Sim Frequência:			
PA: ___x___ mmHg.		Peso: ___kg.	
Altura: ___m.		IMC: ___kg/m.	
Antecedentes Pessoais <input type="checkbox"/> Nenhum <input type="checkbox"/> Obesidade <input type="checkbox"/> Hipertensão Arterial <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Apneia Obstrutiva do Sono <input type="checkbox"/> Litíase <input type="checkbox"/> Cirurgia. Qual?		Antecedentes Familiares <input type="checkbox"/> Nenhum <input type="checkbox"/> Câncer de Próstata <input type="checkbox"/> Hiperplasia Benigna Prostática <input type="checkbox"/> Câncer de Mama <input type="checkbox"/> Outro. Qual? _____	
Escore I-PSS <input type="checkbox"/> Leve: 0 a 7 pontos <input type="checkbox"/> Moderado: 8 a 19 pontos <input type="checkbox"/> Graves: 20 a 35 pontos	Esvaziamento (Obstrutivos) Jato Fraco () Não () Sim Jato Interrompido () Não () Sim Jato Afilado () Não () Sim Esforço Miccional () Não () Sim Hesitância () Não () Sim	Irritativos (Armazenamento) Polaciúria (freq.) () Não () Sim Poliúria (vol.) () Não () Sim Noctúria () Não () Sim Disúria () Não () Sim Urgência () Não () Sim Dor Suprapúbica () Não () Sim	
Pós-miccional			
Sensação de esvaziamento vesical incompleto () Não () Sim Gotejamento Pós-miccional () Não () Sim			

Questionário de Histórico Clínico do Paciente
“Análise de fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento do Câncer de
Próstata e Hiperplasia Benigna Prostática”
Escore Internacional de Sintomas Prostáticos
(I-PSS – International Prostate Symptom Score)

		Nenhum a vez	Menos que 1 vez em cada 5	Menos que a metade das vezes	Cerca de metade das vezes	Mais que a metade das vezes	Quase sempre
1	No último mês, quantas vezes você teve a sensação de não esvaziar completamente a bexiga após terminar de urinar?	0	1	2	3	4	5
2	No último mês, quantas vezes você teve de urinar novamente em menos de 2 horas após ter urinado?	0	1	2	3	4	5
3	No último mês, quantas vezes você observou que, ao urinar, parou e recomeçou várias vezes?	0	1	2	3	4	5
4	No último mês, quantas vezes você observou que foi difícil conter a urina?	0	1	2	3	4	5
5	No último mês, quantas vezes você observou que o jato urinário estava fraco ?	0	1	2	3	4	5
6	No último mês, quantas vezes você teve de fazer força para começar a urinar?	0	1	2	3	4	5
		Nenhum a	1 vez	2 vezes	3 vezes	4 vezes	5 vezes
7	No último mês, quantas vezes em média você teve de se levantar à noite para urinar ?	0	1	2	3	4	5

Escore I-PSS

() Sintomas leves: 0 a 7 pontos

() Sintomas moderados: 8 a 19

pontos
() Sintomas graves: 20 a 35 pontos

Questionário de Histórico Clínico do Paciente
“Análise de fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento do Câncer de
Próstata e Hiperplasia Benigna Prostática”

Exames

Datas	/ /	/ /	/ /
Hemácias (milhões/mm ³)			
Hematócrito (%)			
Hemoglobina (g/dL)			
Leucócitos Totais (mil/mm ³)			
Plaquetas (mil/mm ³)			
Glicose (mg/dL)			
Hemoglobina Glicada (% Hb Total)			
Ureia (mg/dL)			
Creatinina (mg/dL)			
Ácido Úrico (mg/dL)			
Colesterol Total (mg/dL)			
Colesterol LDL (mg/dL)			
Colesterol HDL (mg/dL)			
Triglicerídeos (mg/dL)			
TGO/AST (U/L)			
TGP/ALP (U/L)			
PSA Total (ng/mL)			
PSA Livre (ng/mL)			
Inibidor de α-Redutase (pg/mL)			
EAS			
Ultrassonografia de Próstata	Data: ____/____/____ Volume da Próstata:		

Biópsia de Próstata	Data: ____/____/____ Negativa () Positiva () Score de Gleason: Estadiamento: Número de Fragmentos: OBS:
Outros	
Tratamento e Conduta	

APÊNDICE A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, da pesquisa “**Análise de fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento do Câncer de Próstata e Hiperplasia Benigna Prostática**”, no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a instituição.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador(a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

Os objetivos desse estudo são:

- 1) Este projeto se propõe estudar fatores genéticos que possam estar influenciando o desenvolvimento de doenças características da população idosa masculina como o Câncer de Próstata e Hiperplasia Benigna Prostática.
- 2) Pretende-se ainda, estudar fatores que modulem o risco de desenvolver tais doenças.
- 3) Compreender a forma de atuação de todos esses fatores de maneira a identificar a doença de maneira precoce que permita adotar os tratamentos e cuidados médicos mais adequados para atenuar ou diminuir esses riscos.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em realizar a leitura e assinatura do termo de consentimento para que sejam coletadas amostras de 5 ml de sangue total e utilizadas para posterior extração de DNA, podendo ser solicitada uma segunda coleta, caso o material não seja suficiente ou sofra algum tipo de alteração (coagulação, hemólise), **sem que isto acarrete nenhum prejuízo ou risco para a saúde do paciente, exceto**

aqueles relacionados com um pequeno desconforto comum à retirada rotineira de sangue, que será realizada por pessoal previamente treinado.

O material biológico coletado (sangue) será encaminhado ao LabGen (Laboratório de Genética Humana da UNIGRANRIO para o estudo molecular. Serão respeitadas as normas vigentes para Pesquisa em Seres Humanos segundo a resolução do Ministério da Saúde 196/96, especialmente relevantes aos estudos de caráter genético.

Custo/Reembolso para o participante: A participação nesta pesquisa não envolverá custo adicional com sua participação. As consultas, exames, tratamentos serão totalmente gratuitos, não recebendo nenhuma cobrança com o que será realizado. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação.

Confidencialidade da pesquisa: O sigilo e a confidencialidade das informações obtidas pelo estudo serão preservados. A identidade dos participantes não será revelada, pois cada amostra de material biológico fará parte de um banco de dados identificados por códigos específicos. Os resultados serão utilizados com fins científicos, podendo ser publicados em revistas científicas.



Os indivíduos que se opuserem a ingressar no projeto, ou que quiserem se retirar do mesmo, não sofrerão nenhum tipo de penalidade referente ao seu atendimento clínico, acesso a tratamentos disponíveis, ou acesso a qualquer outro tipo de atividade assistencial e/ou de pesquisa que por ventura possam existir no futuro.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com os pesquisadores responsáveis.

Pesquisador(a) responsável: Dr. Pedro HernánCabello

Endereço: LabGen - Laboratório de Genética Humana/Escola de Ciências da Saúde / Universidade do Grande Rio – Bloco F – Rua José de Souza Herdy 1160, Duque de Caxias, RJ; CEP 25071-202; Telefone: (21) 2672-7881; Email: phca01@gmail.com

Dr. Pedro H. Cabello
Pesquisador Responsável
Tel.: (21) 2672-7881
Email: phca01@gmail.com

Eu, _____, declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado pelos procedimentos que serão realizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento. Poderei consultar o

pesquisador responsável (acima identificado), a quem poderei contatar a qualquer momento que julgar necessário através do telefone (021)2672-7881 ou e-mail phca01@gmail.com sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e minha participação no mesmo. O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 - Telefone (021)2672-7733 - Endereço Eletrônico: cep@unigranrio.com.br.

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.

_____, _____ de _____ de 20____.

ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO