



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

JESSIANNE DA SILVA MIRANDA

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *CDH1-160 C/A* E *TP53 ARG72PRO*
COM A SUSCEPTIBILIDADE E O PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE
PRÓSTATA DE ALTO RISCO EM PACIENTES NO ESTADO DO PIAUÍ**

PARNAÍBA/PI
2017

JESSIANNE DA SILVA MIRANDA

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *CDH1-160 C/A* E *TP53 ARG72PRO*
COM A SUSCEPTIBILIDADE E O PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE
PRÓSTATA DE ALTO RISCO EM PACIENTES NO ESTADO DO PIAUÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Ministro Reis Velloso, para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biologia Molecular

Orientador: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto

PARNAÍBA-PI
2017

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

M672a Miranda, Jessianne da Silva.

Associação dos polimorfismos *CDH1-160 C/A* e *Tp53 ARG72PRO* com a susceptibilidade e o prognóstico do câncer de próstata de alto risco em pacientes no estado do piauí [manuscrito] / Jessianne da Silva Miranda. – 2017.

54 f. : il. color.

Impresso por computador (printout).

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto.

Área de concentração: Biologia Molecular.

1. Câncer de Próstata. 2. Terceira Idade. 3. Idosos. 4. Variação Genética.
4. Biotecnologia. I. Título.

CDD: 616.607

JESSIANNE DA SILVA MIRANDA

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *CDH1-160 C/A* E *TP53 ARG72PRO*
COM A SUSCEPTIBILIDADE E O PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE
PRÓSTATA DE ALTO RISCO EM PACIENTES NO ESTADO DO PIAUÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

APROVADA EM ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Giovanni Rebouças Pinto
Universidade Federal do Piauí – *Campus* Ministro Reis Velloso
Presidente

Prof^ª. Dr^ª. France Keiko Nascimento Yoshioka
Universidade Federal do Piauí - *Campus* Ministro Reis Velloso
Membro

Prof. Dr. Fábio José Nascimento Motta
Universidade Federal do Piauí - *Campus* Ministro Reis Velloso
Membro

Dedico este trabalho aos meus pais Ires e Sergio, pelo incentivo e apoio em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus por ser a base das minhas conquistas e permitir a conclusão de mais uma etapa da minha vida;

Aos meus pais, irmã, familiares e meu namorado por sempre terem acreditado em mim, pelo apoio e a confiança desde o início;

Ao meu orientador Professor Dr. Giovanny Rebouças Pinto, pela dedicação e os ensinamentos em suas orientações prestadas na elaboração deste trabalho;

Aos todos companheiros do laboratório Gehmed da Universidade Federal do Piauí pelo acolhimento, ensinamento e contribuição para conclusão deste trabalho

A professora Dr^a France Keiko Nascimento Yoshioka e professor Dr. Fábio José Nascimento Motta por aceitarem participar da banca examinadora desta dissertação de mestrado;

A Universidade Federal do Piauí e a Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa concedida para incentivo aos estudos;

Obrigada a todos.

RESUMO

O Câncer de Próstata é a malignidade não cutânea mais frequentemente diagnosticada em homens mais velhos, o que o torna um grave problema de saúde pública nos dias atuais. Apesar dos fatores de riscos relacionados com seu desenvolvimento serem conhecidos, a sua patogênese é pouco compreendida principalmente, quanto à sua relação com os fatores genéticos. A expressão e/ou função anormal de genes como *CDH1* e *TP53* contribuem para progressão tumoral pelo aumento de invasão e metástase, e por isso são frequentemente relatados em tumores de próstata sendo assim, esses genes podem ser potenciais marcadores genéticos e ajudar a identificar indivíduos com susceptibilidade para essa neoplasia. O trabalho compreende um estudo caso-controle com 156 pacientes com Câncer de Próstata de alto risco de acordo com a classificação de D'Amico, diagnosticados no Hospital São Marcos em Teresina-PI e 193 controles saudáveis, sem histórico de câncer. Tem como objetivo identificar associações dos polimorfismos *CDH1*-160C/A e *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade e o prognóstico do Câncer de Próstata de alto risco pelas variáveis clinicopatológicas nos pacientes do estado do Piauí. A análise dos polimorfismos foi realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase e subsequente digestão enzimática (PCR-RFLP). Para a análise dos dados utilizou-se o programa *IBM SPSS Statistics* versão 20.0.0 com a significância estatística estabelecida em $p \leq 0,05$. As análises de correlação, *Odds Ratio* (OR) em um intervalo de confiança (IC) de 95% foram avaliados por um o modelo de Regressão Logística não condicional. Os resultados da distribuição das frequências alélicas dos polimorfismos *CDH1*-160 C/A (OR=1,17, IC 95% 0,84-1,63, $p=0,38$) e *TP53* Arg72Pro (OR=0,88, IC 95% 0,64-1,20, $p=0,47$) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controles e casos. Nossos resultados não indicaram susceptibilidade para o Câncer de Próstata na presença dos polimorfismos *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro. Ademais, não se observou associação dos polimorfismos com prognóstico do Câncer de Próstata de alto risco pela análise das variáveis clínicas dos casos: níveis séricos de *PSA*, escore de Gleason e estágio tumoral TNM ($p > 0,05$). Estudos contínuos são necessários para o melhor entendimento que o efeito das variações genéticas atuam como fator de susceptibilidade para o Câncer de Próstata.

Palavras-chave: Agressividade, Fatores de riscos, Idosos, Variação Genética

ABSTRACT

Prostate cancer is the non-cutaneous malignancy most often diagnosed in older men, making it a serious public health problem today. Although the risk factors related to its development are known, its pathogenesis is little understood mainly, as regards its relation with the genetic factors. Abnormal expression and/or function of genes such as CDH1 and TP53 contribute to tumor progression through increased invasion and metastasis, and therefore are frequently reported in prostate tumors thus being such genes may be potential genetic markers and help identify individuals with susceptibility to this neoplasm. The study comprised a case-control study with 156 patients with high-risk prostate cancer according to D'Amico classification, diagnosed at the Hospital São Marcos in Teresina-PI and 193 healthy controls with no history of cancer. It aims to identify associations of CDH1-160C/A and TP53 Arg72Pro polymorphisms with the susceptibility and prognosis of high-risk Prostate Cancer by clinical-pathological variables in patients from the state of Piauí. Polymorphism analysis was performed by the polymerase chain reaction technique and subsequent enzymatic digestion (PCR-RFLP). For the analysis of the data was used the program IBM SPSS Statistics version 20.0.0 with the statistical significance established in $p \leq 0.05$. The correlation analyzes, Odds Ratio (OR) in a 95% confidence interval (CI) were evaluated by a non-conditional Logistic Regression model. The results of the distribution of allele frequencies of CDH1-160 C/A (OR=1.17, 95% CI 0.84-1.63, $p=0.38$) and TP53 Arg72Pro (OR=0.88, 95% CI 0.64-1.20, $p=0.47$) did not present statistically significant differences between the control and cases. Our results did not indicate susceptibility to Prostate Cancer in the presence of CDH1-160 C/A and TP53 Arg72Pro polymorphisms. In addition, there was no association between the polymorphisms with high risk Prostate Cancer prognosis and the clinical variables of the cases: PSA serum levels, Gleason score and TNM tumor stage ($p > 0.05$). Continuous studies are necessary for the better understanding that the effect of genetic variations act as a susceptibility factor for prostate cancer.

Key words: Aggressiveness, Elderly, Genetic Variation, Risk Factors,

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomia da glândula prostática: zonas da próstata.....	16
Figura 2 Grau de diferenciação de acordo com escore de Gleason.....	19
Figura 3. Gene <i>CDH1</i> e a posição do SNP <i>CDH1</i> -160 C/A.....	23
Figura 4. Papel mitocondrial de TP53.....	24
Figura 5. Padrão de bandas na análise do polimorfismo <i>CDH1</i> -160 C/A pela técnica de RFLP representado pela presença da banda na altura de 244 pb.....	31
Figura 6. Padrão de bandas na análise do polimorfismo <i>TP53</i> Arg 72Pro pela técnica RFLP representado pela presença da banda na altura de 244 pb.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Risco de tumor prostático em indivíduos com valores de PSA $\leq 4,0$ ng/mL...18	18
Tabela 2. TNM – Classificação clínica 20	20
Tabela 3. Classificação do risco de D’Amico para Câncer de Próstata.....21	21
Tabela 4. <i>Primers</i> e o tamanho dos produtos da amplificação.....30	30
Tabela 5. Parâmetros de ciclagem adotados para as reações de <i>PCR</i>30	30
Tabela 6. Análise do polimorfismo pela técnica de <i>RFLP</i> : enzimas para análise do polimorfismo e alelos.....31	31
Tabela 7. Variáveis clínicas e a agressividade tumoral.....32	32
Tabela 8. Distribuição de idade e PSA entre os grupos caso e controle.....33	33
Tabela 9. Comparação das frequências alélicas dos SNPs <i>CDHI-160 C/A</i> e <i>TP53 Arg72Pro</i> em diferentes populações.....34	34
Tabela 10. Características das amostras quanto às variáveis clínicas.....35	35
Tabela 11. Distribuição dos polimorfismos e associação dos genótipos e alelos com Câncer de Próstata.....36	36
Tabela 12 - Associação entre variáveis clínicas de agressividade e o polimorfismo <i>CDHI-160 C/A</i> por regressão logística não-condicional não ajustado e ajustado por idade.....37	37
Tabela 13. Associação entre variáveis clínicas de agressividade e o polimorfismo <i>TP53 Arg72Pro</i> por regressão logística não-condicional com modelo não ajustado e ajustado por idade.....38	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A-ADENINA

ARG-ARGININA

AJCC-*AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER*

C-CITOSINA

CAP-CÂNCER DE PRÓSTATA

CDH1-*CADHERIN 1*

G-GUANINA

GS-*GLEASON SCORE* (ESCORE DE GLEASON)

INCA-INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER

KB-KILOBASE

KDA-QUILODALTON

NG/ML-NANOGRAMA POR MILILITRO

PB-PARES DE BASE

PCR-*POLYMERASE CHAIN REACTION* (REACÇÃO DA POLIMERASE EM CADEIA)

PRO-PROLINA

PSA-*PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN* (ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO)

RFLP-*RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM* (POLIMORFISMO BASEADO NO COMPRIMENTO DE FRAGMENTO DE RESTRIÇÃO)

SNP-*SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM* (POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO)

TP53-*TUMOR PROTEIN 53*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1 Câncer de próstata: epidemiologia e fatores de risco.....	15
2.2 Diagnóstico e Classificação.....	17
2.3 Polimorfismos de susceptibilidade para o Câncer de Próstata.....	21
2.3.1 Gene CDH1 (E-caderina) e o Polimorfismo-160 C/A.....	22
2.3.2 Gene TP53 e o Polimorfismo Arg72Pro.....	23
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4. METODOLOGIA.....	27
4.1 Seleção dos sujeitos e aspectos éticos.....	27
4.2 Extração, quantificação e armazenamento do DNA.....	28
4.3 Amplificação e análise das regiões polimórficas.....	29
4.4 Análise estatística.....	32
5. RESULTADOS.....	33
6. DISCUSSÃO.....	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

O Câncer de Próstata (CaP) ocupa o quinto lugar no ranking mundial dentre os cânceres que causam morte em homens, ficando atrás apenas do de pulmão, fígado, estômago e colorretal. Devido a sua alta taxa de incidência e mortalidade é um grave problema de saúde pública e acomete geralmente homens com idade acima de 65 anos. Isso pode ser explicado pelo aumento contínuo da expectativa de vida, além do mais sugere-se que os homens não são rastreados intensamente na sua idade mais jovem (FERLAY, 2015; INCA 2015; BECHIS, 2011). Diversos fatores de risco como idade avançada, histórico familiar e etnia em conjunto com fatores ambientais contribuem para predisposição do CaP. No entanto, sua etiologia ainda não está completamente entendida, particularmente por ser uma doença heterogênea no que diz respeito aos comportamentos morfológicos e clínicos.

Nos últimos anos têm ficado cada vez mais evidente que as variações genéticas desempenham um papel chave para susceptibilidade do CaP. Tais variações incluem os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphisms*) como os que ocorrem nos genes *Cadherin 1 (CDH1)* e *Tumor Protein p53 (TP53)* envolvidos em processos celulares essenciais como adesão celular, síntese e reparo do DNA, controle do ciclo celular. O gene *CDH1* é definido como um supressor de tumor, uma vez que tem sido frequentemente encontrado regulado negativamente em tumores epiteliais. A redução/ausência da expressão ou função do *CDH1* contribui para a progressão do câncer aumentando a proliferação, invasão e metástase (BERX; VAN ROY, 2009; SCHNEIDER, 2014).

O gene *TP53* também é considerado um supressor de tumor por desempenhar papel na apoptose, além do controle do ciclo celular. Devido à importância de *TP53* na supressão tumoral, os polimorfismos que alteram sua função podem afetar a chance de câncer, a progressão e/ou a resposta ao tratamento. O polimorfismo no códon 72 produz uma mudança na estrutura da proteína, modificando assim as propriedades e efeitos bioquímicos da proteína e exibindo diferentes propriedades oncogênicas como consequência (WHIBLEY et al, 2009; MITTAL et al., 2011; LU et al., 2014).

Neste contexto, os SNPs têm sido alvo de diversos estudos que objetivam investigar a associação entre essas variações e o CaP, embora os resultados sejam bastantes controversos dependendo da população envolvida em cada estudo (ZHU, 2015; AL OLAMA, 2014; QI-WEN DENG, 2014). Assim, esse trabalho tem por objetivo identificar a associação dos SNPs *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade e o prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí para melhor esclarecimento do efeito que as variações genéticas atuam como fator de risco para essa neoplasia.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Câncer de Próstata: Epidemiologia e Fatores de risco

O CaP é a neoplasia maligna mais comum entre os homens e é esperado que o número de casos aumente cerca de 60% em todo o mundo, acometendo predominantemente homens idosos. A incidência do CaP aumenta acentuadamente na sétima década de vida, sendo que somente cerca de 1% dos pacientes possui menos de 50 anos de idade (JEMAL et al., 2010; INCA, 2015).

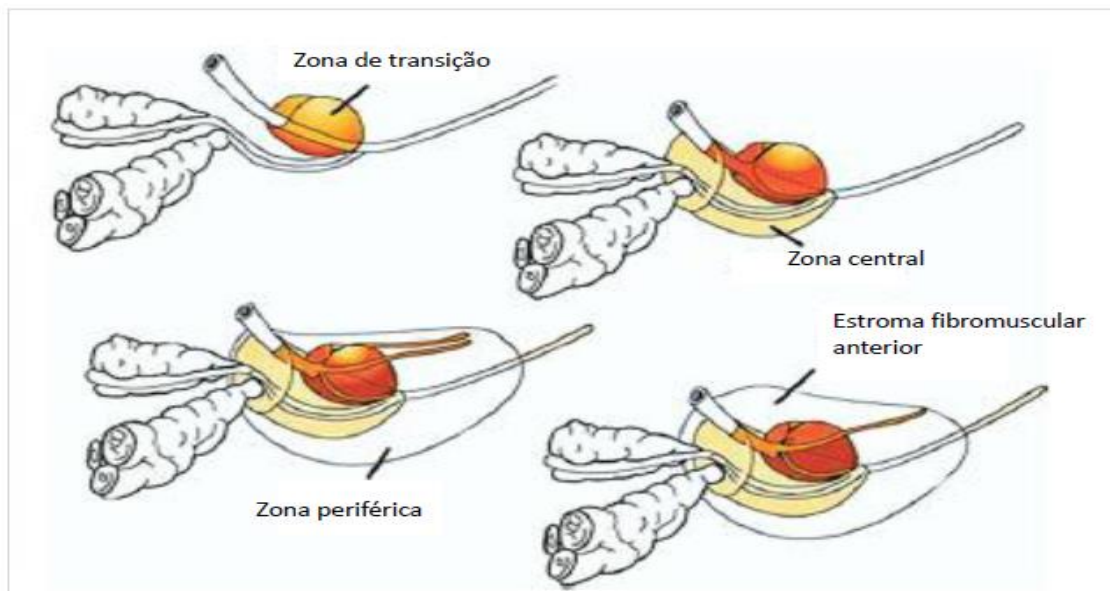
De acordo com a última estimativa mundial 1,1 milhão de casos de CaP foram diagnosticados em 2012, correspondendo a 15% dos cânceres diagnosticados em homens com aproximadamente 70% dos casos ocorrendo em regiões desenvolvidas. As taxas de incidência mais altas são observadas na Austrália/Nova Zelândia, Europa Ocidental e América do Norte (FERLAY et al., 2014; INCA, 2015). No Brasil, apesar das últimas estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) apontarem para um declínio no número de casos (61.200 novos casos esperados para 2016 contra 68.000 casos estimados no ano de 2015), a incidência desse tipo de câncer ainda é alta quando comparado a outros tipos que acometem o homem. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o CaP é o mais incidente em todas as regiões do país, em 2015 a região Nordeste apresentou taxa bruta de 51,84/100 mil casos, a região Sul com 95,63/100 mil; 67,59/100 mil no Centro-Oeste, 62,36/ 100 mil no Sudeste e 29,50/100 mil no Norte. No estado Piauí, a estimativa para o ano de 2015 foi de 890/100 mil novos casos (taxa bruta de 55,41% ao ano) e de 210/100mil (taxa bruta de 53,6% ao ano) para capital Teresina (INCA, 2015).

O aumento da expectativa de vida, a melhoria e a evolução dos diferentes métodos de diagnóstico, além da qualidade dos sistemas de informações, em função da disseminação do rastreamento do CaP com antígeno prostático específico (*PSA*, do inglês *prostate-specific antigen*) e o exame do toque retal, podem ser as explicações para altas taxas de incidência desse câncer. O CaP é a quinta causa de morte por câncer, em homens, com uma estimativa de 307,000 mortes, representando 6,6% do total da mortalidade por câncer no mundo. No Brasil, em 2013, ocorreram quase 14 mil mortes por esse tipo de câncer (INCA, 2014; 2015).

O CaP pode se desenvolver a partir de umas das três regiões ou zonas nas quais a glândula prostática é dividida (Figura 1). Cerca de 80 a 85% dos casos começam na zona periférica; 10 a 15% a partir da zona transicional e de 5 a 10% na zona central (AJCC,

2010). Quase todos os casos o CaP são adenocarcinomas, pois a maioria tem origem nas células das glândulas que produzem o líquido seminal (LORENZO et al., 2016).

Figura 1. Anatomia da glândula prostática: zonas da próstata.



Fonte: Adaptado de CRAWFORD (2009).

O CaP é definido como uma doença multifatorial, uma vez que engloba fatores genéticos e ambientais como o estilo de vida pessoal (ADJAKLY et al., 2015). O único fator de risco bem estabelecido para o surgimento do CaP é a idade, já que cerca de 80% dos casos ocorrem a partir dos 65 anos (ARCANGELI et al., 2012; INCA, 2014).

O histórico familiar também é um poderoso fator de risco, aproximadamente de 10 a 20% dos homens acometidos têm pelo menos um parente afetado, isso mostra que existe uma forte evidência que a genética confere susceptibilidade para CaP (SCHAID, 2004; ZHU et al., 2011). Outros fatores, como a etnia/cor da pele e a dieta também apresentam associação com o CaP. Evidências epidemiológicas mostram o aumento da incidência do CaP em afro-americanos em comparação com os americanos asiáticos, porém, é possível que essa diferença entre negros e brancos se dê em função do estilo de vida ou dos fatores associados à detecção da doença (VIRNING et al., 2009; ELLES et al., 2014; INCA, 2015). Já o consumo de dietas baixas em gordura e rica em vegetais e alimentos à base de plantas têm um impacto negativo sobre a incidência do CaP. Esses alimentos, são fontes de micronutrientes com efeitos potencialmente benéficos na

prevenção do CaP e oferecem uma grande quantidade de antioxidantes e fitoquímicos que têm um efeito benéfico demonstrável no CaP (ARCANGELI et al., 2012; VANCE et al., 2013; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014). O aumento da ingestão de licopeno, tipicamente encontrado em tomate e outras frutas vermelhas pode reprimir a carcinogênese da próstata por meio da diminuição da oxidação lipídica, aumento das capacidades antioxidantes e inibição da proliferação celular (WEI; GIOVANNUCCI 2012).

2.2. Diagnóstico e Classificação

Diversos métodos são utilizados para analisar e confirmar a evidência de CaP, porém, as principais ferramentas usadas são a avaliação dos níveis séricos de PSA, exame de toque retal e biópsia transretal (SMITH et al., 2007; EPSTEIN, 2008). Dentre esses métodos, o valor do nível sérico do *PSA* é considerado uma ferramenta valiosa para o rastreamento de CaP. O *PSA* é uma proteína produzida e secretada por células da glândula da próstata normais, mas seus níveis são muitas vezes elevados em pacientes com CaP, portanto, o aumento do volume prostático está diretamente relacionado com aumento do nível sérico desse antígeno. (NICKEL, 2008; SAINI et al., 2016).

O valor absoluto do nível sérico de *PSA* é útil para determinar a extensão do CaP e avaliar a resposta ao tratamento dessa neoplasia. Também é utilizado como método de triagem para detectar CaP embora controverso, pois as doenças benignas da próstata tais como hiperplasia benigna da próstata (BPH) ou prostatite, bem como manipulações da próstata (ciclismo, exame digital retal) podem causar elevadas concentrações séricas de *PSA* (ADHYAM, 2012; STEPHAN et al., 2014).

Existe uma variação biológica dos valores de *PSA* na população geral, e nenhum valor exclui a possibilidade de detecção de CaP. Hoje em dia, muitos casos são suspeitos pelos níveis entre 2,5 a 10 ng/mL e são confirmados por histologia por meio da biópsia transretal. Uma concentração total de *PSA* de 4,0 ng/mL é considerado o limite superior do normal, esse valor é utilizado como limite para o encaminhamento de uma investigação mais aprofundada. Entretanto, cerca de 20% dos homens com níveis de *PSA* abaixo de 4 ng/mL têm baixa chance de desenvolver o CaP e muitos homens com níveis mais elevados não têm CaP (CARY et al., 2015; PRON, 2015) (Tabela 1).

Tabela 1. Risco de tumor prostático em indivíduos com valores do PSA 4,0 ng/mL.

Nível do PSA (ng/ml)	Risco de CaP
0 a 0,5	6,6%
0,6 a 1	10,1%
1,1 a 2	17%
2,1 a 3	23,9%
3,1 a 4	26,9%

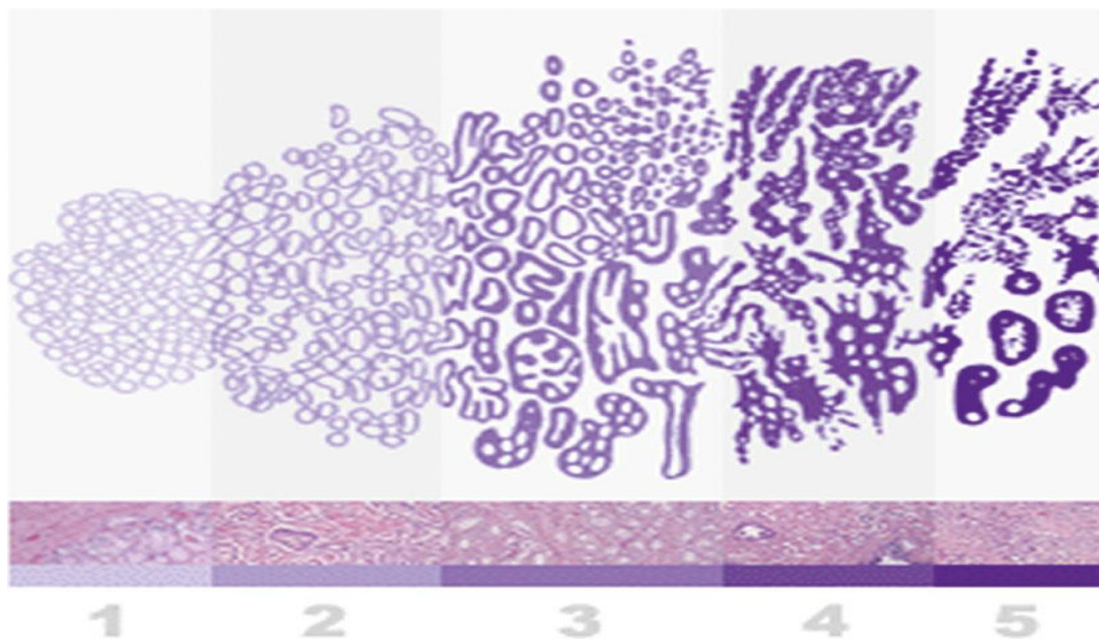
Em combinação com a medida dos níveis séricos de *PSA*, o exame de toque retal é considerado um método obrigatório de diagnóstico e estadiamento para CaP. Cerca de 18% dos pacientes acometidos podem ser diagnosticados pela realização desse exame, pois detecta alterações na zona periférica da glândula prostática quando o seu volume é cerca de 0,2 mL ou maior. Embora possua algumas limitações na sua realização, uma vez que somente as porções posterior e lateral da próstata podem ser palpadas, principalmente entre os homens obesos pelo excesso de adiposidade ou até mesmo pela experiência do profissional, o exame de toque retal pode indicar se uma biópsia da próstata é recomendada para um paciente, especialmente nos casos mais agressivos (BRASIL, 2002; DI, 2011; HEIDENREICH et al., 2011).

Para confirmação da presença ou ausência e classificação da doença, análise histopatológica do tecido obtido pela biópsia transretal da próstata representa o único método definitivo. É por meio desse método que se classifica os tumores de acordo com o escore de Gleason, sistema que tem sido o único e poderoso indicador no prognóstico de CaP, visto que se baseia no grau de perda da arquitetura normal do tecido glandular do tumor (GURCAN et al., 2009; HUANG et al., 2013).

Apesar das mudanças significativas no diagnóstico clínico e histológico do CaP, o sistema de classificação de Gleason continua sendo um dos preditores mais poderosos para o prognóstico do CaP. O sistema atribui padrões histológicos de 1 (bem diferenciado) a 5 (pobremente indiferenciado) para cada CaP, de acordo com o grau de diferenciação do tumor, obtidos por meio da atribuição de um grau primário mais predominante e um segundo grau mais predominante encontrado no tumor (Figura 2). A partir da soma dos padrões estabelecidos, o escore vai de 6 a 10 em função da agressividade do câncer. O escore 6 é tipicamente recomendado como o grau mais baixo a ser atribuído ao material de biópsia e 10 representa o câncer mais agressivo. Câncer com escore de Gleason de 6

ou menos são frequentemente bem diferenciados ou de baixo grau, escore de Gleason de 7 pode ser chamado de moderadamente diferenciado ou de grau intermediário e câncer com escore de 8 a 10 pode ser chamado de pobremente diferenciado ou de alto grau (PIERORAZIO et al., 2013; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014; GORDETSKY; EPSTEIN, 2016).

Figura 2. Grau de diferenciação de acordo com Score de Gleason



Fonte: Anais de Patologia: Elsevier Masson (2004).

A classificação do CaP é aplicável somente para os casos de adenocarcinomas (BRASIL, 2004). O sistema internacionalmente usado para essa classificação é o TNM, que é baseado na evolução do tumor primário (categoria T), se o câncer se espalhou para regiões dos nódulos linfáticos (categoria N) e se existe evidência de metástase distantes (categoria M), além do escore de Gleason baseado na biópsia. Os parâmetros do TNM recebem graduações, geralmente de T0 a T4, de N0 a N3 e de M0 a M1, respectivamente (Tabela 2) (JAMES, 2014).

Tabela 2-TNM-Classificação Clínica

TX	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Não há evidência de tumor primário
T1	Não palpável ou visível
T1a	Achado histológico \leq 5% de tecido
T1b	Achado histológico $>$ 5% de tecido
T1c	Biópsia por agulha
T2	Tumor confinado à próstata
T2a	\leq metade de um lobo
T2b	$>$ metade de um lobo
T2c	Ambos os lobos
T3	Através da cápsula prostática
T3a	Extracapsular
T3b	Vesícula (s) seminal (ais)
T4	Fixo ou invade estruturas adjacentes: colo vesical, esfíncter externo, reto, músculos elevadores do ânus, parede pélvica
NX	Linfonodos não podem ser avaliados
N0	Ausência de metástase em linfonodo regional
N1	Metástase em linfonodo regional
M	Metástase a distancia
M0	Ausência de metástase a distancia
M1	Metástase á distancia
M1a	Linfonodo não regional
M1b	Ossos(s)
M1c	Outra(s) localização(ões)

Os tumores localizados podem variar daqueles com baixo potencial maligno (que, se não forem tratados, ainda não são susceptíveis de resultar em morbidade ou reduzir a expectativa de vida), aos que são curáveis com uma única modalidade dirigida exclusivamente à própria glândula, ou àqueles destinados a recorrer localmente ou sistemicamente apesar da terapia local ideal. A classificação de risco de pacientes com base na combinação dos fatores clínicos, é amplamente utilizado no cenário clínico. Vários sistemas de classificação de risco de pré-tratamento têm sido amplamente utilizados para prever o prognóstico após tratamento local para CaP, bem como a probabilidade de progressão para doença metastática e sobrevida global (FURUBAYASHI et al., 2013; CHANG et al., 2014; JO et al., 2014). Com o aumento da triagem do *PSA*, a classificação do estágio tumoral e a melhoria da técnica cirúrgica desde a introdução do sistema de classificação de risco D'Amico em 1998, as características do CaP de alto risco também podem ter evoluído também com o tempo

A classificação de risco de D'Amico é um dos sistemas de estratificação mais comumente usados para determinar pacientes em grupos de baixo ($PSA < 10$ ng/mL e $GS \leq 6$ e $cT1-cT2a$), intermediário ($PSA=10-20$ ng/mL ou $GS=7$ ou $cT2b$) e alto risco ($PSA > 20$ ng/ml ou $GS \geq 8$ ou estágio clínico $\geq cT2c/T3$) para recidiva tumoral e mortalidade específica de CaP com base no nível de *PSA* pré-operatório, escore de Gleason baseado em biopsia e estágio clínico/patológico TNM (BOORJIAN, 2008; D'AMICO, 2011; NARITA, 2015) Tabela 3.

Tabela 3. Classificação do risco de D'Amico para Câncer de Próstata

Risco Baixo	$PSA < 10$ ng/mL e escore de Gleason ≤ 6 e estágio clínico T1c ou T2a
Risco Intermediário	$PSA \geq 10$, porém < 20 ng/mL ou escore de Gleason =7 ou estágio clínico T2b
Risco Alto	$PSA \geq 20$ ng/mL ou escore de Gleason ≥ 8 ou estágio clínico T2c/T3

2.4. Polimorfismos de susceptibilidade para o Câncer de Próstata

O CaP é uma doença heterogênea com múltiplos *loci* contribuindo para a sua susceptibilidade. Os mais importantes em termos de susceptibilidade hereditária para CaP são os SNPs, comuns num certo número de alelos de baixa penetração de vários genes (CARUSO et al., 2009). Estudos realizados pela associação genômica ampla (GWAS, do inglês *genome-wide association study*) identificaram cerca de 76 *loci* associados com a chance da ocorrência de CaP e cerca de 80 variantes em 20 cromossomos diferentes, que estão consistentemente implicados com susceptibilidade aumentada de CaP e as chances parecem aumentar em um indivíduo que carrega mais alelos de susceptibilidade (KADER et al., 2009; AL et al., 2014; EELES et al., 2014; TAO, 2015). Apesar dos avanços significativos na identificação dos genes que são associados ao CaP, os SNPs explicam apenas cerca de 30% da chance de CaP em pessoas com histórico familiar (ALBERTI et al., 2010; EELES et al., 2013).

O mecanismo da carcinogênese prostática ainda não é inteiramente entendido; portanto, a descoberta de SNPs associados com o CaP pode fornecer novas perspectivas sobre a etiologia dessa doença. Além disso, estudos sugerem que esses SNPs comuns

entre diferentes populações podem ser utilizados, em combinação, para prever a susceptibilidade para CaP de um indivíduo (SUN et al., 2008; ZHENG et al., 2008).

2.4.1 Gene *CDH1* (E-caderina) e o Polimorfismo -160 C/A

A capacidade das células de aderir umas às outras é uma propriedade fundamental na evolução da multicelularidade. As caderinas são moléculas transmembranares de adesão célula-célula, que desempenham papéis essenciais na morfogênese e homeostase dos tecidos (ARBOLEDA; HEISENBERG, 2010; MAITRÊ et al., 2013).

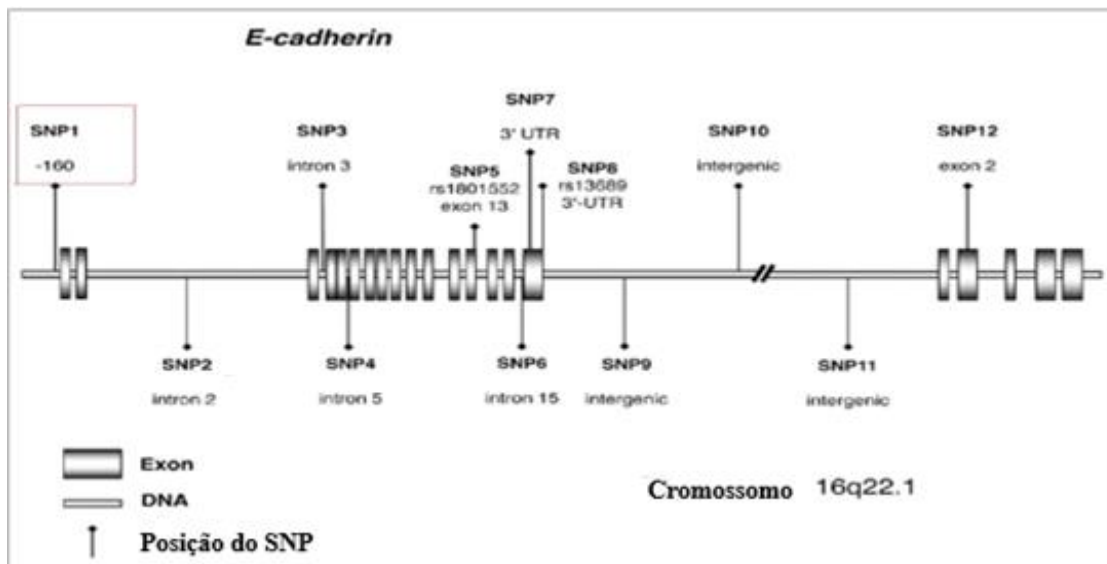
Entre a superfamília das caderinas se encontra a E-caderina (também conhecida como CDH1), codificada pelo gene *CDH1*, uma molécula de adesão célula-célula dependente de Ca^{2+} , expressada principalmente nas células epiteliais onde são progenitoras de carcinomas. A glicoproteína transmembranar CDH1 é essencial para a formação e manutenção da arquitetura epitelial, obrigatória para adesão intercelular de células epiteliais, sinalização celular e manutenção da polaridade e diferenciação celular, ambos durante o desenvolvimento e vida adulta (BARANWAL et al., 2009; CARNEIRO et al., 2012; ASIAP et al., 2014).

O gene *CDH1* está localizado no cromossomo 16 (16q22.1), essa região é eliminada em 30% dos tumores prostáticos primários e mais de 70% em CaP com metástases. Contém 16 éxons e 15 introns abrangendo aproximadamente 100 kb de todo o DNA genômico e codifica um polipeptídeo com 728 aminoácidos. A glicoproteína codificada possui 120 kDa e contém um único domínio transmembranar, um domínio citoplasmático de 150 aminoácidos e um extracelular de 550 aminoácidos. A região extracelular inclui cinco domínios repetidos em tandem, as chamadas repetições de caderina extracelular. Embora o domínio extracelular seja suficiente para proporcionar uma adesão Ca^{+} dependente, o citoplasmático é importante para produzir uma forte adesão celular, por meio do agrupamento lateral extracelular e interação com citoesqueleto (ROY et al., 2008; SCHNEIDER et al., 2014).

O *CDH1* é mundialmente reconhecido como um gene supressor de invasão, pois a inativação ou desregulação por mutações, deleções alélicas ou mudanças epigenéticas levam a perda da expressão e função da proteína (GALL; FRAMPTON, 2013; M F et al., 2016). O SNP relatado primeiramente por LI et al. (2000) é responsável por mudanças de nucleotídeos na sequência de DNA do gene *CDH1*, e está localizado na região promotora à 160 pb do início do sítio de transcrição, causando a mudança de Citosina para Adenina

(*CDHI*-160 C/A) (Figura 3). O alelo -160A causa uma redução de 68-70% da atividade transcricional comparada com o alelo -160C.

Figura 3. Gene *CDHI* e a posição de SNP *CDHI*-160 C/A



Fonte: G. JACOBS (2011).

A perda funcional da E-caderina é o passo fundamental na interrupção do contato intercelular que leva ao estado invasivo e metastático dos tumores, que ocorre durante a progressão do tumor (CHIEN et al., 2012; RODRIGUEZ et al., 2012). Conseqüentemente, a variante *CDHI*-160C/A pode alterar a atividade transcricional do gene e ser responsável pela diminuição da expressão da proteína codificada e aumento da susceptibilidade aos cânceres epiteliais, incluindo o CaP (WANG et al., 2012; ZHENG et al., 2014)

2.4.2 Gene *TP53* e o Polimorfismo Arg72Pro

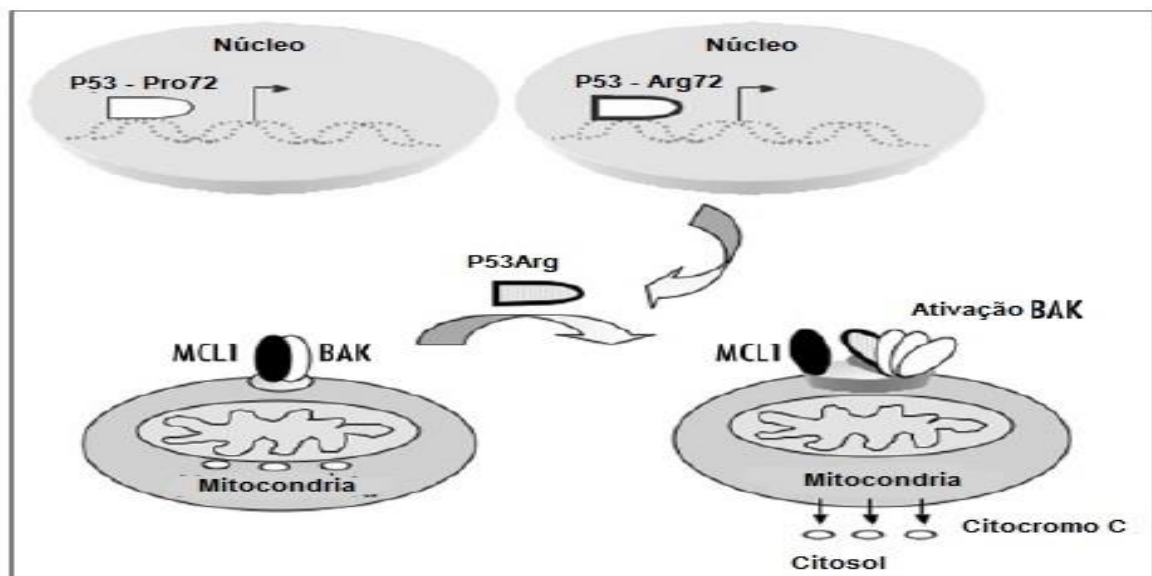
O *TP53* está localizado no cromossomo 17 (17p13) composto de 19.198 nucleotídeos, contém 11 exons e codifica uma fosfoproteína nuclear homônima de 53 kDa, composta por 399 aminoácidos altamente conservada em diversos organismos (BELYI et al., 2010; INOUE et al., 2012; MIRZAYANS et al., 2012).

O gene *TP53* é um fator de transcrição que pode ser ativado por diversas tensões celulares, incluindo expressão de oncogenes, danos ao DNA, hipóxia, disfunção metabólica e estresse oxidativo. A ativação da proteína *TP53* pode resultar numa

variedade de respostas celulares, como controle do ciclo celular, apoptose, reparo do DNA, alterações nas características celulares, tais como o estado de diferenciação e mecanismos celulares anticancerígenos funcionando como um supressor de tumor (AYLON, OREN et al., 2011; AUBREY et al., 2016). A perda da função de TP53 ocorre com frequência em câncer humano e resulta de mutações no gene *TP53* ou defeitos na via que o ativa. Mais de 75% das mutações em *TP53* conduzem à expressão de uma proteína de comprimento completo com uma única substituição de aminoácido (BROWN et al., 2009; SAID et al., 2014).

O SNP mais estudado no *TP53* ocorre no códon 72 do exón 4, e consiste de uma única substituição de Arginina (Arg) para Prolina (Pro) no códon 72 e as duas variantes de p53 diferem na forma como influenciam processos celulares, o SNP *TP53* Arg72Pro ocorre na região rica em Prolina do *TP53* desempenhando um papel vital na repressão de crescimento e funções apoptóticas da proteína. A variante *TP53* Arg72 induz apoptose cinco vezes melhor do que a variante *TP53* Pro72 e suprime transformação celular mais eficientemente, isso é devido a variante *TP53* Arg72 ter um *loci* mais próximo das mitocôndrias e um maior tráfico mitocondrial desta isoforma regula a liberação do citocromo C para citosol, assim interagindo com a proteína pró-apoptótica BAK, que posteriormente melhora ainda mais essa atividade apoptótica (Figura 4) (ZHANG et al., 2010; JEONG et al., 2010; JAKOB et al., 2016).

Figura 4. Papel mitocondrial de TP53



Fonte: Murphy ME et al. (2004).

A mutação de *TP53* é um evento comum em tumores humanos e está associada à ocorrência e progressão do tumor, e ocorre em mais de 50% de todos os tumores malignos (MI et al., 2012; CHI et al., 2015). A transformação maligna das células prostáticas é favorecida pela ruptura do equilíbrio entre a proliferação e a apoptose das células epiteliais prostáticas e *TP53* é um fator importante na manutenção desse equilíbrio (COLLAVIN et al., 2010; ROGLER et al., 2011).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a associação dos polimorfismos *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade e o prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí.

3.2 Objetivos Específicos

Comparar as frequências alélicas dos polimorfismos do grupo controle com frequências alélicas em diferentes populações mundiais

Comparar os genótipos dos polimorfismos nas populações caso e controle, para analisar possíveis associações destes genótipos com a susceptibilidade aos tumores de próstata;

Comparar os genótipos dos polimorfismos obtidos na população de pacientes com as variáveis clínicas: níveis séricos de PSA, escore de Gleason e estadiamento tumoral para analisar possíveis associações com essas variáveis.

4 METODOLOGIA

4.1 Seleção dos sujeitos e aspectos éticos

O número amostral deste trabalho compreenderá um total de 349 amostras, composta de 156 pacientes com CaP de alto risco, de acordo com a classificação internacional de D'Amico, pelas informações presentes nos prontuários ($PSA \geq 8$ ou escore de Gleason > 20 ou estágio tumoral T2c/T3) e consecutivamente diagnosticados no Departamento de Urologia do Hospital São Marcos em Teresina, Piauí (Casos) e 193 indivíduos do sexo masculino sem histórico pessoal ou familiar de câncer (Controles). Atendendo à resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que trata das normas para pesquisa envolvendo seres humanos, este projeto teve seu protocolo aprovado no dia 13 de julho de 2010, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (CAAE nº 0140.0.045.000-10).

Amostras de sangue periférico dos pacientes com CaP foram colhidas no ato da prostatectomia, uma vez que tal procedimento já possui um acesso venoso, e não exclusivamente para a pesquisa, o que anula qualquer incômodo e risco desnecessário. Alternativamente, amostras frescas congeladas de tecido prostático foram fornecidas pelo Departamento de Patologia do Hospital para análise. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração no Departamento de Patologia do Hospital, de onde as amostras foram encaminhadas em caixas térmicas para o Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, para serem processadas.

Os pacientes ou seus responsáveis legais foram informados da pesquisa e ao concordarem em participar assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), autorizando a coleta da amostra durante ou após o procedimento cirúrgico. Foram inclusos neste estudo voluntários com diagnóstico histopatológico de CaP, sem distinção de cor e classe social e que constassem em seus registros médicos, informações clínicas de estadiamento tumoral e *PSA*. Foram excluídos do estudo indivíduos que, por qualquer razão ou motivo, tinham a sua capacidade de autodeterminação reduzida, sobretudo no que se refere ao TCLE e indivíduos que já possuíam um parente de 1º grau participando da pesquisa, estratégia que visa diminuir a semelhança amostral e, conseqüentemente, aumentar a significância dos resultados.

Como o CaP acomete principalmente indivíduos idosos, o grupo controle constituiu-se de amostras de sangue periférico de homens piauienses com idade ≥ 60 anos sem diagnóstico prévio de câncer e histórico de câncer na família. As amostras de sangue periférico foram colhidas em tubos de ensaio contendo EDTA, levadas em caixas térmicas, para dosagem do nível sérico de *PSA*, em laboratórios na cidade de Parnaíba conveniados com o Sistema Único de Saúde. Como critério de inclusão, o valor de *PSA* $\leq 2,5$ ng/mL foi adotado, um valor abaixo do que é considerado o valor normal para assegurar que o indivíduo do grupo controle tivesse menor chance de desenvolver CaP.

4.2 Extração, quantificação e armazenamento do DNA

As amostras de sangue periférico foram submetidas à extração do DNA com o kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega Inc., USA), de acordo com as especificações do fabricante. Resumidamente, os seguintes passos foram: 300 μ L de sangue total foram adicionados à 900 μ L de solução de lise celular e a mistura incubada por 10 minutos com movimentos de inversão constantes; em seguida, após a centrifugação da mistura, descartou-se o sobrenadante, e as amostras foram levadas ao vórtex para evitar a formação de grumos nas etapas seguintes, que é a adição de uma mistura de 300 μ L de solução de lise nuclear e 100 μ L de solução de precipitação de proteínas; centrifugou-se novamente e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo contendo 300 μ L de isopropanol, submetido novamente à centrifugação, seguida pelo descarte do sobrenadante e pela adição de etanol 70%; uma nova centrifugação foi feita e o sobrenadante foi então descartado e a amostra de DNA obtida, visível como uma massa branca (*pellet*) no fundo do tubo que foi incubada com 100 μ L de uma solução de reidratação em banho-maria por 1 hora a 65°C para que o DNA fosse eluído, ou seja, para que ficasse disperso em solução de forma homogênea.

Para a extração do DNA a partir das amostras de tecido prostático, fragmentos de tecido (aproximadamente 20 mg) foram mecanicamente homogeneizados (homogeneizador manual, modelo D-130, Wiggenshouse SDN BHD) em solução de lise nuclear (*Wizard® Genomic Kit*, Promega Inc., USA) e depois incubados com 20 mg/mL de proteinase K a 65°C por 12 horas ou até que o fragmento estivesse completamente digerido. Subsequentemente, a proteinase K foi inativada a 95°C por 15 minutos e o produto total foi usado para a extração do DNA de forma semelhante ao procedimento de extração de DNA a partir de sangue periférico.

A pureza e concentração do DNA foram determinadas por eletroforese em gel de agarose a 0,2%, corado com GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, USA) e em espectrofotômetro (Biospec-nano, Shimadzu, Japan), por meio do comprimento de onda de 260 e 280 nm. Uma vez confirmada a qualidade das amostras, as mesmas são armazenadas em freezer (-20°C) no Laboratório de Genética e Biologia Molecular, UFPI, *Campus* Ministro Reis Velloso.

4.3 Amplificação e análise das regiões polimórficas

As regiões polimórficas foram analisadas pela técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR) associada ao polimorfismo baseado no comprimento do fragmento de restrição (PCR-RFLP). A reação de PCR foi realizada em um volume total de 15 µL, com as seguintes concentrações padrão: 200 µM de dNTPs (deoxinucleotídeo trifosfato), 1,3 mM de MgCl² (cloreto de magnésio), 0,3 µM de cada primer, 1,0 unidade de Taq DNA polimerase, 0,6 µL de DNA genômico, 2,5 µL de Tampão 1x e água estéril em quantidade suficiente para completar 15 µL. Vale ressaltar que, para todo conjunto de reações preparadas, foi usado um controle negativo (branco), no qual todos os reagentes estão presentes, com exceção do DNA, para o controle de possíveis contaminações com outro DNA que não seja do indivíduo em questão. Depois de misturados, os reagentes são submetidos a diferentes ciclos de temperatura gerados em termociclador (*AmpliTherm Thermal Cycler*, Madison, WI, USA).

A região do polimorfismo *CDHI-160 C/A* foi amplificada com os *primers forward* 5'- CAG CCA AGT GTA AAA GCC CTT TCT G -3' e *reverse* 5'- GGT GAA CCC TCA GCC AAT CAG C -3', resultando em um produto de 234 pb. A Tabela 3 apresenta os *primers* utilizados para cada gene e o tamanho do produto de amplificação e a Tabela 4 resume os parâmetros adotados para a amplificação das regiões polimórficas estudadas. Para averiguar a qualidade da amplificação bem como excluir a possibilidade de contaminação, os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 0,2%, corados com GelRed™ e visualizados em transluminador, sob luz ultravioleta a partir do qual se realiza a foto-documentação do gel para posterior análise visual. Após a visualização, os produtos amplificados foram submetidos a análise de RFLP.

Tabela 3. *Primers* e o tamanho dos produtos da amplificação

<i>SNP</i>	Sequência do Primer (5' - 3')	Produto (pb)
<i>CDHI-160 C/A</i>	CAG CCA AGT GTA AAA GCC CTT TCT G GGT GAA CCC TCA GCC AAT CAG C	234
<i>TP53 Arg72Pro</i>	GAA GAC CCA GGT CCA GAT GA CTG CCC TGG TAG GTT TTC TG	152

Tabela 4. Parâmetros de ciclagem adotados para as reações de *PCR*

Polimorfismos	Desnaturação Inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão Final
<i>CDHI -160C/A</i>	95°C/3min	95°C/45seg	59°C/45seg	72°C/45seg	72°/7min
<i>TP53 Arg72Pro</i>	95°C/3min	95°C/45seg	58°C/45seg	72°C/45seg	72°/7min

Na análise de RFLP para o SNP *CDHI-160 C/A*, foi utilizada a enzima de restrição *BstEII*. O indivíduo homozigoto é caracterizado pelas bandas de 190 e 44 pb (C/C), a presença de bandas de 234, 190 e 44 pb caracteriza indivíduo heterozigoto (C/A) e uma única banda de 234 pb caracteriza o indivíduo homozigoto mutante (A/A) (Figura 5). Na análise de RFLP para o SNP *TP53 Arg72Pro*, foi utilizada a enzima de restrição *BstUI*. O indivíduo homozigoto (G/G) é caracterizado pelas bandas 100 e 52 pb, o indivíduo heterozigoto (G/C) é caracterizado pelas bandas 152, 100 e 52 e o indivíduo homozigoto mutante (C/C) é caracterizado por uma única banda de 152 pb (Figura 6). As condições padronizadas para análise polimorfismos pela técnica de RFLP estão resumidas na Tabela 5.

Figura 5. Padrão de bandas na análise do polimorfismo CDH1-160 C/A pela técnica de RFLP representado pela presença da banda na altura de 244 pb.

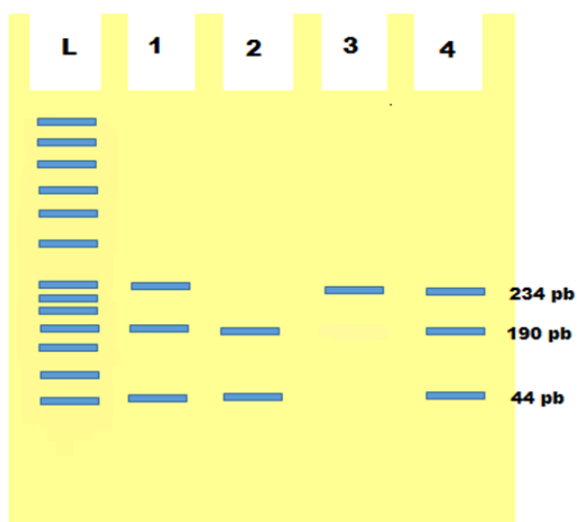


Figura 6. Padrão de bandas na análise do polimorfismo TP53Arg 72Pro pela técnica RFLP representado pela presença da banda na altura de 244 pb

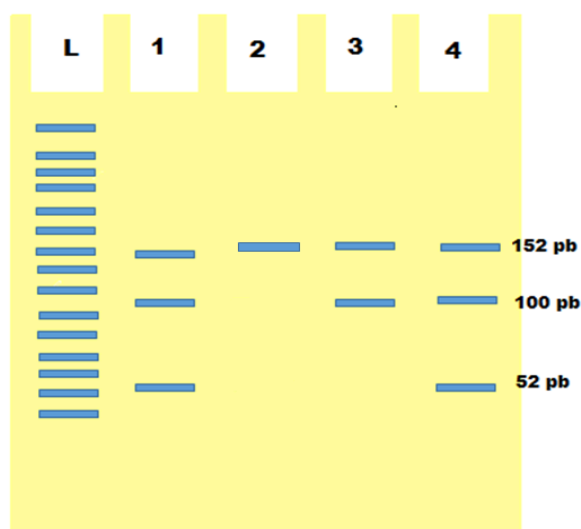


Tabela 5. Análise do polimorfismo pela técnica de *RFLP*: enzimas para análise do polimorfismo e alelos

<i>SNP</i>	Enzima	Condição
<i>CDH1-160 C/A</i>	<i>BstEII</i>	0,1 µL de enzima (1 U); 0,8 µL tampão; 3 µL PCR; 11,1 µL H ₂ O; 37°C por 16 horas
<i>TP53 Arg72Pro</i>	<i>BstUI</i>	0,1 µL de enzima (1U) ;1,5 µL tampão; 3 µL PCR; 10,4 µL H ₂ O; 60°C por 12 horas

Após a digestão, os produtos da RFLP foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (10%), em cuba vertical, com uma corrente de 120V por um tempo de 3 horas, e visualizados por meio de revelação com nitrato de prata.

4.4 Análise estatística

Ao final das análises, as populações caso e controle foram testadas quanto ao seu equilíbrio pela lei de Hardy-Weinberg. A distribuição dos genótipos dos polimorfismos entre as duas populações foi utilizada com o teste do Qui-Quadrado ou quando necessário, o teste Exato de *Fisher*. Para verificar a distribuição dos genótipos dos polimorfismos *CDH1-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* entre as duas populações e das variáveis clínicas na população de pacientes, utilizou-se o modelo de regressão logística não-condicional ajustado por idade. Para determinação da distribuição das idades e o *PSA* entre os grupos caso e controle foi realizado o teste de variância não-paramétrico *Kruskalwallis*.

Para avaliar a influência dos genótipos desses polimorfismos sobre as variáveis clínicas, estas foram categorizadas de forma binária de acordo com sua contribuição para agressividade tumoral (Tabela 6).

Tabela 6-Variáveis clínicas dos pacientes

Variáveis Clínicas	Categorização binária
PSA pré-operatório	< 20 ng/mL ou ≥ 20 ng/mL
Escore de Gleason	< 8 ou ≥ 8
TNM	T1a/T2b (N0-N2/M0-M1) ou Tc2/T4 (N0-N2/M0-M1)

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do pacote estatístico *IBM SPSS Statistics* versão 20.0.0. Assim, para todos os testes foi considerado um nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS

Pela técnica de PCR foi realizada à amplificação de todas amostras casos e controles do gene *TP53*. Para o gene *CDHI* conseguiu-se à amplificação de todas as amostras casos, porém os controles foram amplificados 190 das 193 amostras, entretanto isso não interferiu nos resultados da pesquisa. Ambos os grupos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg no que diz respeito à distribuição da frequência dos polimorfismos *CDHI*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro para controles ($p=0,73$ e $p=0,69$) e para casos ($p=0,80$ e $p=0,65$), respectivamente.

A média das idades entre as amostras foram avançadas para os dois grupos, sendo $67,8 \pm 7,5$ anos para os casos e $68,3 \pm 6,6$ anos para os controles, sem diferença significativa entre ambos ($p=0,11$). Uma idade mínima de 60 anos foi estabelecida para o grupo controle. Para os níveis de *PSA* houve uma diferença significativa ($p=0,0001$) entre casos (0,19-1.238) e controles (0,06-2,5), o critério usado para fazer parte do grupo controle era um valor de *PSA* $\leq 2,5$ ng/mL. (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição de idade e *PSA* entre os grupos caso e controle.

	Controle (n=193)	Caso (n=156)	p
Média de idade \pm DP	68,3 \pm 6,6 anos	67,8 \pm 7,5 anos	p=0,11
Variação de idade	54–97 anos	44 ¹ –97 anos	
<i>PSA</i> inicial (amplitude)	1,08 (0,06–2,5) ng/mL	62,9 ² (0,19–1.238) ng/mL	p=0,0001

DP=Desvio Padrão, *PSA*=*Prostatic specific antigen*; ¹Dados disponíveis para 155 amostras; ²Dados disponíveis para 125 amostras.

As frequências alélicas encontradas no grupo controle na população do estado do Piauí foram comparadas com as frequências de outras populações. A frequência alélica do SNP *CDHI*-160 C/A encontrada na população em estudo (26,9%) foi similar à observada na Suécia (27%), Eslovênia (26,5%) e Estados Unidos (26,5%). Os resultados não diferiram estatisticamente entre as demais populações ($p > 0,05$). Para o SNP *TP53* Arg72Pro as frequências alélicas diferiram estatisticamente com a população de asiáticos do sul da China ($p=0,004$), que apresentou uma frequência maior do alelo Pro, e de indianos do Norte da Índia ($p=0,046$). Em relação as outras populações não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação das frequências alélicas dos SNPs *CDH1-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* em diferentes populações

População	Etnicidade	N	Frequências Alélicas CDH1-160 C/A (%)	p	Ref.
A					
Piauiense	-	190	26,9	-	Presente estudo
Polônia	Caucasianos	100	37	0,12	Forszt et al. (2009)
Polônia	Caucasianos	511	29,5	0,75	Cybulski et al. (2007)
Suécia	Caucasianos	801	27	1,00	Lindstrom et al. (2005)
Suécia	Caucasianos	669	28,3	0,75	Josson et al. (2004)
Eslovenos	Caucasianos	198	26,5	1,00	Hajdinjk et al. (2004)
USA	Africanos	117	26,5	1,00	Pookot et al. (2004)
Japão	Asiáticos	139	24,5	0,74	Kamoto et al. (2005)
Japão	Asiáticos	219	17,8	0,12	Tsukino et al. (2004)
Frequências Alélicas TP53 Arg72 Pro (%)					
Pro					
Piauiense	-	193	37,8	-	Presente estudo
Sul da China	Asiáticos	268	58,2	0,004*	Xu et al. (2010)
Japão	Asiáticos	105	33,8	0,655	Suzuki et al. (2003)
Taiwan	Asiáticos	126	44,9	0,385	Wu et al. (2004)
Descendentes africanos	Africanos	196	37	0,355	Ricks-Santi et al.(2010)
Chile	NI	117	30,34	0,367	Quiñones et al. (2006)
Eslovênia	Caucasianos	446	29,2	0,291	Sivonová et al. (2015)
Alemão	Europeus	490	26,4	0,096	Meyer et al. (2013)
Índia	Região Norte	265	24	0,046*	Mittal et al. (2011)
Iranianos	NI	80	26,9	0,096	Babaei et al. (2014)

NI–Não Informado; *p<0,05(p=0,004)

Todos os pacientes são classificados com CaP de alto risco, sendo 67% dos pacientes com tumor em estágio avançado T2c/T4, mesmo sem comprometimento nodal e sem metástase. Em relação ao escore de Gleason, 60% apresentam menor que 8, e 39% apresentam *PSA* pré-operatório >20 ng/mL (Tabela 9).

Tabela 9. Características das amostras quanto às variáveis clínicas.

Variáveis clínicas	n (%)
PSA pré-operatório (ng/mL)	
< 10	36 (23)
10–19,99	28 (18)
≥ 20	61 (39)
ND	31 (20)
Escore de Gleason	
< 8	93 (60)
≥ 8	59 (38)
ND	4 (2)
Estágio tumoral	
T1/T2b (N0/M0)	12 (8)
T1/T2b (N1/M0)	11(7)
T2c/T4 (N0/M0)	106 (67)
T2c/T4(N1/M1)	4 (3)
T2c/T4 (N1/M0)	8 (5)
T2c/T4 (N0/M1)	11 (7)
ND	4 (3)

ND–Não disponível

A regressão logística foi utilizada para fazer uma predição da associação dos SNPs *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade para CaP. O modelo escolhido foi a regressão logística não-condicional, devido ao desbalanceamento entre o número de casos e controles estudados.

A distribuição do polimorfismo *CDH1*-160 C/A para o genótipo do modelo dominante CA+AA foi 53% e 46% para casos e controles, respectivamente. Não foi encontrada diferença significativa entre os dois grupos (OR=0,93, IC=95%, 0,61-1,43, p=0,76) quando comparada ao genótipo CC, e quando o OR foi ajustado por idade, também não foi estatisticamente significativo (OR=0,99; IC 95% 0,99-1,0; p=0,63). Mostrando que o alelo de risco não está associado com o CaP. Para o *TP53* Arg72Pro também não foi observada diferenças significativas do modelo dominante Arg/Pro+Pro/Pro quando comparado com o genótipo Arg/Arg (OR=0,69; IC 95% 0,44-1,07; p=0,10) entre casos e controles. E quando ajustado por idade também não mostrou

significância (OR=0,99, IC 95% 0,98-1,00, p=0,13). Nossos resultados não encontraram nenhuma associação dos SNPs com susceptibilidade para o CaP de alto risco (Tabela 10).

Tabela 10. Distribuição dos polimorfismos e associação dos genótipos e alelos com Câncer de Próstata

<i>CDHI -160C/A</i>	Casos, n (%)	Controles, n (%)	OR (95% IC)	p	OR (95% IC)	p*
CC	74 (47)	103 (54)	1,00		1,00	
CA	70 (45)	72 (38)	1,35 (0,86-2,11)	0,18	1,00 (0,99-1,01)	0,25
AA	12 (8)	15 (8)	1,11 (0,49-2,51)	0,79	1,00 (0,98-1,01)	0,95
CA+AA	82 (53)	87 (46)	0,93 (0,61-1,43)	0,76	0,99 (0,99-1,00)	0,63
Alelos						
C	218 (70)	278 (73)	1,00		ND	ND
A	94 (30)	102 (27)	1,17 (0,84-1,63)	0,38	ND	ND
<i>TP53 Arg72Pro</i>						
Arg/Arg	65 (42)	64 (33)	1,00		1,00	
Arg/Pro	73 (47)	113 (59)	0,65 (0,41-1,02)	0,06	0,99 (0,98-1,00)	0,08
Pro/Pro	18 (11)	16 (8)	1,12 (0,52-2,39)	0,76	1,00 (0,99-1,01)	0,73
Arg/Pro+Pro/Pro	91 (58)	129 (67)	0,69 (0,44-1,07)	0,10	0,99 (0,98-1,00)	0,13
Alelos						
Arg	203 (65)	240 (62)	1,00		ND	ND
Pro	109 (35)	146 (38)	0,88 (0,64-1,20)	0,47	ND	ND

*Ajustado por idade

Para a associação com prognóstico do CaP de alto risco, os casos foram estratificados de acordo com os níveis séricos de *PSA*, escore de Gleason e estágio tumoral TNM, categorizados de forma binária. Os resultados demonstraram não haver associação entre os polimorfismos *CDHI-160 C/A* (Tabela 11) e *TP53 Arg/Pro* (Tabela 12) com as variáveis clinicopatológicas dos pacientes com CaP de alto risco. Como também mostrou que a idade não influencia nos fatores que caracterizam o prognóstico do CaP associados com os genótipos em estudo.

Tabela 11. Associação entre variáveis clínicas de agressividade e o Polimorfismo *CDH1-160 C/A* por regressão logística não-condicional não ajustado e ajustado por idade.

<i>CDH1-160C/A</i>	PSA ¹ < 20 n (%)	PSA ≥ 20 n (%)	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p*
CC	30 (47)	30 (50)	1,00		1,00	
CA	29 (45)	25 (40)	0,86 (0,41-1,80)	0,69	0,99 (0,98-1,01)	0,85
AA	5 (8)	6 (10)	1,20 (0,33-4,36)	0,78	1,00 (0,98-1,02)	0,57
CA+AA	34 (53)	31 (50)	0,91 (0,45-1,84)	0,79	1,00 (0,99-1,01)	0,98
	Gleason ² < 8 n (%)	Gleason ≥ 8 n (%)				
CC	46 (50)	26 (44)	1,00		1,00	
CA	41 (44)	28 (48)	1,20 (0,61-2,38)	0,58	1,00 (0,99-1,01)	0,41
AA	6 (6)	5 (8)	1,47 (0,41-5,30)	0,55	1,00 (0,98-1,02)	0,48
CA+AA	47 (50)	33 (56)	1,24 (0,64-2,39)	0,51	1,00 (0,99-1,01)	0,35
	TNM ³ Localizado n (%)	TNM Avançado n (%)				
CC	15 (65)	57 (44)	1,00		1,00	
CA	7(31)	61 (47)	2,29 (0,87-6,03)	0,09	1,01 (0,99-1,02)	0,16
AA	1 (4)	11 (9)	2,89 (0,34-24,22)	0,32	1,01 (0,98-1,05)	0,30
CA+AA	8 (35)	72 (56)	2,36 (0,93-5,97)	0,06	1,01 (0,99-1,02)	0,11

*Ajustado por idade; ¹Dados disponíveis para 125 amostras (PSA), ²Dados disponíveis para 152 amostras;

³Dados disponíveis para 152 amostras.

Tabela 12. Associação entre variáveis clínicas de agressividade e o polimorfismo *TP53* Arg72Pro por regressão logística não-condicional com modelo não ajustado e ajustado por idade.

<i>TP53</i> Arg72Pro	PSA ¹ < 20 n (%)	PSA ≥ 20 n (%)	OR ¹ (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p*
Arg/Arg	28 (44)	28 (46)	1,00		1,00.	
Arg/Pro	27 (42)	28 (46)	1,03 (0,49-2,18)	0,92	1,00 (0,99-1,01)	0,63
Pro/Pro	9 (14)	5 (8)	0,55 (0,16-1,86)	0,34	0,99 (0,97-1,01)	0,44
Arg/Pro+Pro/Pro	36 (56)	33 (54)	0,91 (0,45-1,85)	0,80	1,00 (0,99-1,01)	0,88
	Gleason ² <8 n (%)	Gleason ≥ 8 n (%)				
Arg/Arg	39 (42)	23 (39)	1,00		1,00	
Arg/Pro	42 (45)	30 (51)	1,21 (0,60-2,43)	0,59	1,00 (0,99-1,01)	0,46
Pro/Pro	12 (13)	6 (10)	0,84 (0,28-2,56)	0,77	0,99 (0,98-1,01)	0,79
Arg/Pro+Pro/Pro	54 (58)	36 (61)	1,13 (0,58-2,20)	0,71	1,00 (0,99-1,01)	0,58
	TNM ³ Localizado n (%)	TNM Avançado n (%)				
Arg/Arg	8 (35)	56 (43)	1,00		1,00	
Arg/Pro	13 (57)	58 (45)	0,63 (0,24-1,65)	0,35	0,99 (0,97-1,00)	0,26
Pro/Pro	2 (8)	15 (12)	1,07 (0,20-5,58)	0,93	0,99 (0,97-1,02)	0,85
Arg/Pro+Pro/Pro	15 (65)	73 (57)	0,69 (0,27-1,75)	0,44	0,99 (0,98-1,00)	0,31

*Ajustado por idade; ¹Dados disponíveis para 125 amostras; ²Dados disponíveis 152 amostras; ³Dados disponíveis 152 amostras.

DISCUSSÃO

O CaP é definido como uma doença multifatorial que envolve fatores genéticos e ambientais como o estilo de vida pessoal. A alta incidência dessa neoplasia, em grande parte do mundo, chamou a atenção para que as causas e os fatores de risco fossem melhores compreendidos para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e detecção, bem como a implantação de tratamentos eficazes portanto, os fatores de risco precisam ser reconhecidos e gerenciados adequadamente para a escolha de um tratamento correto, a fim de minimizar os efeitos adversos e a perda da qualidade de vida (DEAN; LOU, 2013; ADJAKLY et al., 2014; PERDANA et al., 2016).

Homens mais velhos são mais propensos a serem diagnosticados com CaP de alto risco e têm menor sobrevida global, por isso o CaP é considerado uma doença de idosos. A maioria dos homens são diagnosticados na idade de 65 anos ou acima, sendo que 6 em 10 casos de CaP são encontrados em homens com essa faixa etária (MUHAMMAD D; MUHAMMAD A, 2014; HUSSEIN et al., 2015, HOWLADER et al., 2012). Este achado de risco aumentado entre homens, mais velhos, pode refletir o fato de que esses indivíduos provavelmente não foram rastreados em idades mais jovens. Isso pode ser explicado pelo fato de homens cuidarem menos da própria saúde que as mulheres, já que os homens não possuem o hábito de irem ao médico (PUNNEN; COOPERBERG, 2013).

Estudos na literatura apontam que 26% dos homens com pelo menos 75 anos de idade possuem características de CaP de alto risco, enquanto que nas faixas etárias abaixo de 75 anos, a proporção de homens com características de alto risco é inferior a 15% (BECHIS; CARROLL, 2010; SUPIT et al., 2013). Visto que há uma relação entre a idade avançada ao diagnóstico e CaP de alto risco, a média de idade dos pacientes do grupo caso do nosso estudo foi avançada ($67,8 \pm 7,5$ anos). E para uma melhor correlação entre os grupos do estudo foi estabelecida uma idade mínima de 60 anos para a construção do grupo controle, obtendo-se uma média de $68,3 \pm 6,6$ anos.

A média dos níveis séricos de *PSA* também foram analisadas, pois o *PSA* é considerado como um dos marcadores tumorais mais notáveis nas últimas décadas, o que tem aumentado significativamente o manejo do CaP, especialmente para a detecção precoce desta doença, apesar de sua baixa especificidade, com resultados falso-positivos em pacientes com hiperplasia prostática benigna (XU et al., 2013). Com a análise da média dos níveis séricos de *PSA* das amostras, observou-se uma diferença significativa entre casos e controles ($p=0,0001$). Para o grupo caso houve uma variação no nível sérico

de *PSA* de 0,19 a 1.238 ng/mL (média 62,9 ng/mL), mostrando que a detecção do CaP tem sido relatada mesmo com valores de *PSA* <4,0 ng/mL e que níveis elevados de *PSA* são particularmente encontrados em pacientes com crescimento do volume prostático, uma vez que este aumento está diretamente relacionado com a elevação dos níveis séricos desse antígeno (CHANG et al., 2014; FILELLA; FOJ, 2016). Para o grupo controle foi utilizado um critério de inclusão no valor de *PSA* \leq 2,5 ng/mL (média 1,08 ng/mL).

Diversas variações nos genes *CDH1* e *TP53* são associadas com desenvolvimento de diferentes neoplasias, incluindo o CaP, em diversas partes do mundo e os SNPs *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro estão entre os mais estudados e atraído a atenção de diferentes grupos de pesquisa. No Brasil, até o conhecimento presente, não há estudos de associação dos polimorfismos *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade e agressividade do CaP de alto risco. Os estudos brasileiros envolvem outros tipos de câncer, como por exemplo o SNP *CDH1* -160 C/A com a susceptibilidade de cânceres como de mama e o câncer gástrico (MACHADO et al., 2016; BORGES et al., 2010). Já para *TP53* Arg72Pro diversas pesquisas estudam as associações em neoplasias como de bexiga, mama, câncer cervical, meduloblastoma, melanoma e outras doenças como a síndrome mielodisplástica (GONÇALVES et al., 2014; MACHADO-NETO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013; LAPRANO et al., 2014; CARVALHO et al., 2012;; SANTOS et al., 2011).

Diante disso, nosso estudo teve o propósito de avaliar a associação desses SNPs com a susceptibilidade e o prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí. Nossos resultados não mostraram associação estatisticamente significativa entre os polimorfismos *CDH1*-160 C/A (OR=1,17; IC 95% 0,84-1,63; p=0,38) e *TP53* Arg72Pro (OR=0,88; IC 95% 0,64-1,20; p=0,47) com a susceptibilidade para o CaP na população em estudo. Ademais, não foi observada nenhuma associação desses SNPs com as variáveis clínicas relacionadas com o prognóstico do CaP de alto risco em pacientes do estado do Piauí (p>0,05).

As frequências alélicas dos SNP *CDH1*-160 C/A e *TP53* Arg72Pro diferem consideravelmente nas populações, variando entre os diversos grupos étnicos. A frequência do alelo *CDH1* -160A é observada com maior evidência nas populações caucasianas e asiáticas, e pode estar relacionada com os antecedentes genéticos e a exposição ambiental (QUI-DENG et al., 2010). A frequência alélica para *CDH1* do nosso estudo foi consideravelmente similar às das populações caucasianas, mas também se aproximou das populações de africanos. Porém, sabe-se que a população piauiense é

bastante miscigenada com uma composição de 60% Europeia, 21,5% Africanos e 18,5% de nativos americanos (LOPES et al., 2014). Para o SNP *TP53* Arg72Pro a frequência do alelo *TP53* 72Pro observada no nosso estudo foi semelhante as encontradas nas populações de africanos. O alelo *TP53* 72Pro é menos prevalente em Europeus comparado com indivíduos de ascendência africana, o que pode ser explicado pela frequência do alelo *TP53* 72Pro diferir com a latitude, aumentando de forma linear nas populações que se localizam perto do equador (RICKS-SANTI et al., 2010).

As caderinas estão entre as moléculas de adesão mais importantes e melhores examinadas que regulam a organização dos tecidos e influenciam o desenvolvimento do câncer e metástases. Desta forma, são responsáveis pela manutenção do contato célula-célula dentro de vários tecidos, e uma perda ou diminuição destas junções levam a uma motilidade melhorada e permite as células ignorar o seu papel dentro de tecidos organizados (KATTO; MAHLKNECHT, 2011).

O gene *CDH1* é uma das caderinas clássicas que desempenha um papel importante no estabelecimento e manutenção da adesão intercelular, polaridade celular e arquitetura dos tecidos, age como um inibidor do fenótipo invasivo de células cancerosas. Alterações genéticas ou epigenéticas em *CDH1* ou alterações na expressão de suas proteínas, muitas vezes resultam em distúrbios teciduais e invasão aumentada de células tumorais (PAREDES et al., 2012; ANURADHA; JAMES, 2013; LI et al., 2014). Sendo assim, os padrões de expressão aberrantes e a baixa expressão de *CDH1* têm sido associados com mau prognóstico em pacientes com vários tipos de cânceres epiteliais, incluindo CaP (WANG et al., 2012; SCHNEIDER; KOLLIGS, 2014).

Resultados do nosso estudo não demonstraram associação do SNP *CDH1*-160C/A com a susceptibilidade para o CaP de alto risco tanto no modelo não ajustado por idade (OR=0,93; p=0,76), como no OR ajustado (OR=0,99; p=0,63). Contudo, esses resultados foram semelhantes ao trabalho realizado por Cybulski et al. (2007), que também não observaram associação dessa variante com a chance do desenvolvimento do CaP na população da Polônia (OR=0,8; IC 95% 0,5-1,1; p=0,2). Porém, nossos resultados diferem da meta-análise realizada por Qi-Wen Deng et al. (2014), o qual indicaram que portadores do alelo *CDH1*-160A (CA+AA) tem uma maior susceptibilidade de desenvolver o CaP, comparados com os indivíduos homocigotos (CC) (OR=1,22 IC 95% 0,91-1,64; p=0,004). Nesse mesmo contexto, meta-análises como as de Qiu et al. (2009); Wang et al. (2012); Chang et al. (2014) observaram que o alelo *CDH1*-160A pode ser um potencial fator de risco para o desenvolvimento CaP em europeus (OR=1,24; IC 95%

1,08-1,43; $p=0,003$) e asiáticos (OR=1,54; IC 95% 1,23-1,93; $p=0,001$), mas não na população de africanos (OR=0,59; IC 95% 0,32-1,09; $p=0,090$). Yan et al. (2015), observaram em um grupo de africanos que o SNP *CDHI*-160 C/A causa um efeito protetor para o CaP ao fazer a comparação dos alelos (OR=0,65; IC 95% 0,44-0,97; $p=0,03$).

No polimorfismo *TP53* Arg72Pro, as duas variantes diferem na forma como influenciam no processo celular. A variante Arg72 induz a apoptose cinco vezes melhor do que a variante Pro72, provavelmente por meio de uma maior capacidade da variante Arg72 se localizar na mitocôndria e aumentar a transcrição de vários genes regulados por genes pró-apoptóticos. Esse SNP é o mais estudado do gene *TP53*, por estar associado com a susceptibilidade para diferentes malignidades; embora as correlações entre o desenvolvimento do câncer e essa variação do códon 72 tenham sido inconsistentes (JEONG et al, 2010; QIAO et al., 2013).

Nosso estudo não observou associação do SNP *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade para CaP no modelo não ajustado (OR=0,69; $p=0,10$) e OR ajustado (OR=0,99; $p=0,13$), resultados condizentes com o estudo realizado por Sivoňová et al. (2015), que não observaram associação dessa variante com o CaP quando o genótipo Pro/Pro foi comparado com genótipo Arg/Arg em caucasianos (OR=1,08, IC 95% 0,47-2,44; $p>0,05$). A meta-análise realizada por Zhu et al. (2011), também não demonstraram associação do SNP *TP53* Arg72Pro com a susceptibilidade para o CaP e quando realizada a estratificação por etnia não houve diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos genótipos entre casos e controles (OR=1,24, IC 95% 0,93-1,65; $p=0,54$). Entretanto, outros trabalhos mostraram uma correlação dessa variação genética com a susceptibilidade ao CaP; como por exemplo o trabalho realizado por Bansal et al. (2012), em uma população indiana, mostraram que os indivíduos portadores do genótipo Pro/Pro apresentaram uma chance mais elevada de desenvolver CaP (OR=2,59, IC 95% 1,17-5,21; $p=0,02$). Já a pesquisa feita por Ricks-Santi et al. (2010), indicaram que o alelo *TP53* 72Arg foi encontrado significativamente associado com uma chance de CaP numa população de descendentes africanos (OR=1,53, IC 95% 1,02-2,29, $p=0,04$). Esse mesmo resultado do alelo *TP53* 72Arg está associado com o desenvolvimento do adenocarcinoma de próstata também foi observado por Mohammad et al. (2014), na população Paquistanesa (OR=0,34, IC 95% 0,24-0,50; $p<0,0001$).

Os principais critérios utilizados para avaliar a progressão do CaP são os níveis séricos de *PSA*, escore de Gleason e estágio tumoral TNM, os quais são clinicamente

utilizados para classificar os pacientes em diferentes grupos de riscos (baixo, intermediário e alto risco). Além disso, esses três fatores ajudam a direcionar o tratamento adequado (WHITELAND et al, 2013; DRIVALOS et al, 2015). O CaP de alto risco representa 15% de todos os diagnósticos, as definições do CaP de alto risco incluem pacientes com níveis séricos de *PSA* ≥ 20 ng/mL ou escore de Gleason >8 ou estágio clínico TNM (T2c/T3) da doença. Pacientes com estas características são mais propensos à apresentarem um câncer mais agressivo, progredindo para metástase e morte, independentemente da modalidade de tratamento primário escolhida (COOPERBERG, 2010; PUNNEN, 2013).

Nosso estudo também teve por objetivo associar os SNPs *CDHI-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* com prognóstico do CaP de alto risco em pacientes por meio das variáveis clínicas já citadas: nível sérico de *PSA*, escore de Gleason e estágio tumoral TNM. Para a variação do gene *CDHI* não foi observada associação do SNP *CDHI-160 C/A* com as variáveis clínicas *PSA*, escore de Gleason e TNM, mostrando que não há uma correlação desta variante com o prognóstico do CaP de alto risco. Esses resultados foram semelhantes ao trabalho de Li et al. (2006), que também não observaram associação quando os casos foram estratificados pelo nível sérico de *PSA* ($p=0,369$), pelo escore de Gleason ($p=0,342$) ou pelo estágio tumoral ($p=0,588$). No entanto, análise realizada por Chang et al. (2014), observaram que o alelo *CDHI-160A* está associado com alto grau patológico de CaP, incluindo um alto escore de Gleason (OR=1,61; IC 95% 1,07-2,42; $p=0,02$) e estágio tumoral TNM (OR=1,56; IC 95% 1,17-2,08; $p=0,003$). Já os resultados do trabalho de Forszt et al. (2009) mostraram que o genótipo CC está positivamente correlacionado com escore de Gleason ($p=0,003$), sugerindo uma influência na progressão do CaP.

Para o SNP do *TP53 Arg72Pro* também não foi observada associação estatisticamente significativa com nenhuma das variáveis clínicas relacionadas ao prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí. Os resultados corroboram com a análise realizada por Sun et al. (2010), que não demonstraram associação estatisticamente significativa na população chinesa desse SNP com escore de Gleason ($p=0,923$) e estágio tumoral TNM ($p=0,850$). Outros trabalhos também relataram esses mesmos resultados, o estudo de Mittal et al. (2011) realizado em uma população do norte da Índia também não observaram associação estatisticamente significativa com SNP *TP53 Arg72Pro* com algum grau do escore de Gleason com o CaP, similarmemente, não foi associado com metástase ($p>0,05$). Ademais, Rogler et al. (2011) também não

observaram correlação entre a distribuição desse SNP com o escore de Gleason ($p=0,718$) e o estágio tumoral TNM.

Alguns fatores podem influenciar os resultados dos estudos de associações, e como já citado anteriormente, os resultados em relação ao SNPs *CDHI-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* são controversos entre os diferentes trabalhos. Dentre os diversos fatores que contribuem para os resultados divergirem, estão os diferentes estilos de vida e antecedentes genéticos das populações analisadas em cada estudo. Outras razões para as discrepâncias, podem estar relacionadas com o tamanho amostral e até mesmo o tipo de análise estatística realizada para definição dos resultados.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. O número amostral do grupo caso do nosso estudo é composto de 156 pacientes com CaP de alto risco e pode ser considerado pequeno. Na literatura há trabalhos com números amostrais maiores, como os de Sun et al. (2014), um estudo retrospectivo, com 968 pacientes com CaP de alto risco. Porém, há trabalhos com números amostrais inferiores e que mostram resultados estatisticamente significativos como exemplo, trabalhos realizados Babaei et al. (2014) com apenas 28 pacientes com CaP de alto risco, e outros estudos que englobam todos os estágios tumorais como os Forstz et al. (2009); Rogler et al. (2010); Mohammad et al. (2014), com um número amostral de 100, 79, 120, respectivamente. Para a associação com prognóstico foram utilizados apenas os pacientes com CaP de alto risco, pesquisas posteriores seriam necessárias para uma melhor compreensão do papel dessas variações nos diferentes grupos de risco (baixo e intermediário). Além disso, não foi realizada a substratificação da população em estudo por grupos ancestrais. No entanto, como é relatado por Lopes et al. (2014), 78,5 da população Piauiense é em sua maioria de não negros (60% Europeus, 21,5 Africanos e 18,5 nativos americanos), por isso espera-se que os grupos caso e controle do estudo sejam compostos das mesmas proporções de ancestrais. E evidências epidemiológicas mostram o aumento da incidência do CaP em afro-americanos em comparação com os americanos asiáticos. É possível que essa diferença entre negros e brancos se dê em função do estilo de vida ou dos fatores associados à detecção da doença, evidenciando que os fatores ambientais predominam sobre a etnicidade das populações para a etiologia do câncer (KIMURA, 2012; ELLES et al., 2014; FERLAY et al., 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, os resultados sugerem que os SNPs *CDHI-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* não estão associados com a susceptibilidade e o prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí. Até nosso conhecimento não há relatos de estudos da associação dessas variações com o CaP de alto risco no Brasil, o que evidencia a importância de mais estudos nessa área e nos diferentes grupos de riscos. Sabe-se que a população brasileira é bastante heterogênea, e a realização de estudos contínuos seriam fundamentais para uma melhor compreensão do papel que tais SNPs desempenham na etiologia do CaP nos diversos grupos ancestrais.

Por meio dos objetivos propostos para esse estudo caso-controle, podemos concluir:

- A frequência alélica do SNP *CDHI-160 C/A* no estado do Piauí não diferiu estatisticamente com as encontradas em outras populações;
- A frequência alélica do SNP *TP53 Arg72Pro* no estado do Piauí diferiu estatisticamente da frequência encontrada na população de asiáticos e de indianos do Norte da Índia;
- Não foi observada associação dos SNPs *CDHI-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* com a susceptibilidade do CaP de alto risco;
- Não foi observada associação dos SNPs *CDHI-160 C/A* e *TP53 Arg72Pro* com as variáveis clínicas: níveis séricos de *PSA*, escore de Gleason e estágio tumoral TNM relacionadas ao prognóstico do CaP de alto risco em pacientes no estado do Piauí.

REFERÊNCIAS

ABASCAL M F et al. CDH1/E-cadherin and solid tumors. An updated gene-disease association analysis using bioinformatics tools. **Computational Biology and Chemistry**. V. 60, p.9–20, 2016.

ADJAKLY et al. Prostate cancer: The main risk and protective factors –Epigenetic modifications. Vol.76, n. (1), p.25-4. **Ann Endocrinol (Paris)**, 2015.

ADHYAM M; GUPTA AK. A Review on the Clinical Utility of PSA in Cancer Prostate. **Indian J Surg Oncol**. Vol.3, n. (2), p.120–129, 2012.

ANURADHA K. MURALI; JAMES S. NORRIS. The Role of E-Cadherin-Catenin Complex in Prostate Cancer Progression. **Advances in Prostate Cancer**, 2013.

AL, OLAMA et al. A meta-analysis of 87,040 individuals identifies 23 new susceptibility *loci* for prostate cancer. **Nat Genet**. V.46, n.10, p.1103–1109, 2014.

ALBERTI, C. Hereditary/familial versus sporadic prostate cancer: few indisputable genetic differences and many similar clinicopathological features. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**. V.14, p. 31-41, 2010.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Prostate Cancer**. Atlanta, Ga: Copyright American Cancer Society, 2014.

AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER. **AJCC Cancer Staging Manual**. 7th ed. New York, NY: Springer Science+Business Media, 2010. Disponível em: <https://cancerstaging.org/references-tools/deskreferences/Documents/AJCC7thEdCancerStagingManualPart2.pdf>. Acesso em 15/12/2015.

ARBOLEDA-ESTUDILLO Y., KRIEG M., STÜHMER J., LICATA N.A., MULLER D.J., HEISENBERG C.-P. Movement directionality in collective migration of germ layer progenitors. **Curr. Biol**. V. 20, p.161–169, 2010.

ARCANGELI, S et al. Epidemiology of prostate cancer and treatment remarks. **World J Radiol**. V.4, n.6, p. 241-246, 2012.

ASIAF A, AHMAD ST, AZIZ SA, MALIK AA, RASOOL Z, MASOOD A, et al. Loss of expression and aberrant methylation of the CDH1 (Ecadherin) gene in breast cancer patients from Kashmir. **Asian Pac J Cancer Prev**. V,15, n.15, p.6397–403,2014.

AUBREY BJ, STRASSER A, KELLY GL. Tumor-Suppressor Functions of the TP53 Pathway. **Cold Spring Harb Perspect Med**. V. 6, n. (5), 2016.

AYLON; OREN. New Plays in the p53 Theater. **Curr Opin Genet Dev**. V. 21, n. (1), p. 86–92, 2011.

- BABAEI et al. The TP53 Codon 72 Polymorphism and Risk of Sporadic Prostate Cancer among Iranian Patients. Iranian. **J Publ Health**. v. 43, n. (4), p.453-459, 2014.
- BARANWAL S, ALAHARI SK. Molecular mechanisms controlling Ecadherin expression in breast cancer. **Biochem Biophys Res Commun**. V. 384, n.1, p.6–11, 2009.
- BANSAL A, SONI A, RAO P et al. Implication of DNA repair genes in prostate tumourigenesis in Indian males. **Indian J Med Res**. V.136, n. (4), p. 622-32, 2012.
- BECHIS, SK; CARROLL, PR; COOPERBERG, MR. Impact of age at diagnosis on prostate cancer treatment and survival. **J Clin Oncol**. v. 29, p.235-241, 2011.
- BELIY V A et al. The Origins and Evolution of the p53 Family of Genes. **Cold Spring Harb Perspect Biol**. V. 2, n. (6), 2010.
- BOORJIAN SA. Mayo Clinic Validation of the D'Amico Risk Group Classification for Predicting Survival Following Radical Prostatectomy. **J Urol**. Vol.179, n. (4), p.1354-60, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **TNM: classificação de tumores malignos**. Eisenberg. 6. ed. - Rio de Janeiro: INCA, 2004. 254p. Disponível em:
<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/tnm2.pdf>. Acesso em 07/12/2015
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Programa nacional de controle do câncer da próstata: documento de consenso**. Rio de Janeiro: INCA, 2002, 24p. Disponível em:
http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cancer_da_prostata.pdf. Acesso em: 10/12/2015.
- BROWN CJ, LAIN S, VERMA CS, FERSHT AR, LANE DP. Awakening guardian angels: drugging the p53 pathway. *Nature reviews Cancer*. V. 9, p. 862-73, 2009.
- CARNEIRO et al. E-cadherin dysfunction in gastric cancer – Cellular consequences, clinical applications and open questions. **FEBS Letters**. Vol. 586, p. 2981–2989, 2012.
- CARY KC, COOPERBERG MR. Biomarkers in prostate cancer surveillance and screening: past, present, and future. **Ther Adv Urol**. V.5, p. 318–329, 2013.
- CHANG A J et al. High-risk prostate câncer - classification and therapy. **Nat. Rev. Clin. Oncol**. vol. 11, n. (6), p. 308-23, 2014.
- CHANG Z; ZHOU H; LIU Y et al. Promoter methylation and polymorphism of E-cadherin gene may confer a risk to prostatecancer: a meta-analysis based on 22 studies. **Tumour Biol**. V.35, n.(10), p. 10503-13, 2014.
- CHANG et al. Validation of Association of Genetic Variants at 10q with PSA Levels in Men at High Risk for Prostate Cancer. **BJU Int**. v.113, p. E150–E156, 2014.

CHI N. Effect of *p53* gene polymorphism on functions of prostate cancer cells. **Genet. Mol. Res.** V.14, n. (4), p.11700-11709, 2015.

COLLOCA, G; VENTURINO, A. The evolving role of familial history for prostate cancer. **Acta oncologica (Stockholm, Sweden)**. V.50, p. 14–24, 2011.

COLLAVIN L, LUNARDI A, DEL SAL G: P53-family protein and their regulators: hubs and spokes in tumor suppression. **Cell Death Differ.** V.17, p. 901–911, 2010.

CRAWFORD, ED. Epidemiology of prostate cancer. **Urology**. V.62, n. 1, p.3-12, 2003.

CHIEN MH. Effects of e-cadherin (*cdh1*) gene promoter Polymorphisms on the risk and clinicopathologic Development of oral cancer. **Head Neck**. Vo.34, n. (3), p.405-11, 2012.

CYBULSKI C et al. DNA Variation in *MSR1*, *RNASEL* and *E-Cadherin* Genes and Prostate Cancer in Poland. **Urol Int**. v.79, n (1), p.44-9, 2007.

D'AMICO, A.V. Biochemical outcome after radical prostatectomy, externalbeam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localizedprostate cancer. **JAMA**. V. 280, p. 969–974, 1998.

D'AMICO AV. Risk-Based Management of Prostate Cancer. **N Engl J Med**. Vol.365, n. (2), p.169-71, 2011.

DAMLER J-E, AUS G. Prostate cancer. **Lancet**. V. 371, p. 1710-1721, 2008.

DEAN M; LOU H. Genetics and genomics of prostate câncer. **Asian Journal of Andrology**. V.15, p.309–313, 2013.

DI CHU et al. Predictive value of digital rectal examination for prostate câncer detection is modified by obesity. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**. V.14, p. 346–353, 2011.

DRIVALOS A et al. Expression of $\alpha 5$ -integrin, $\alpha 7$ -integrin, E-cadherin, andN-cadherinin localized prostatecancer. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, 2015.

EELES et al. Identification of 23 new prostate cancer susceptibility *loci* using the icogs custom genotyping array. **Nat Genet**. V.45, p.385-391, 2013.

EELES, R et al. The genetic epidemiology of prostate cancer and its clinical implications. **Nat Rev Urol**. V.11, p.18–31, 2014.

EPSTEIN JI, NETTO GJ. **Biopsy interpretation of the prostate**. 4th edition. Wolters Kluwer, Philadelphia, 2008.

EPSTEIN JI, et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. **Eur Urol**, 2015, 9p.

FERLAY et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int. J. Cancer**. 2015,136p.

FILELLA X; FOJ L. Prostate Cancer Detection and Prognosis: From Prostate Specific Antigen (PSA) to Exosomal Biomarkers. **Int. J. Mol. Sci**. V.17, n. (1784), 2016.

FORSZT P et al. Single-Nucleotide Polymorphism Association Study of *VDR* and *CDH1* Genes and the Risk of Prostate Cancer. **Adv Clin Exp Med**. V.18, n (3), p.215–220, 2009.

FURUBAYASHI et al. Radical prostatectomy as radical cure of prostate cancer. **Molecular and clinical oncology**. Vol 1, p. 337-342, 2013.

GOLDBERG H et al. Defining high-risk prostate cancer. **Curr Opin Urol**. V. 23, n. (4), 2013.

GORDETSKY & EPSTEIN. Grading of prostatic adenocarcinoma: current state and prognostic implications. **Diagnostic Pathology**, v. 11, n.25, 2016.

GOTO, TAKAHIRO; MASAHIRO, NAKANO. Significance of an E-cadherin Gene Promoter Polymorphism for Risk and Disease Severity of Prostate Cancer in a Japanese Population. **Urology**. V.70, p.127–130, 2007.

GURCAN et al. Histopathological Image Analysis: A Review. **Rev Biomed Eng**. V. 2, p. 147–171, 2009.

HOWLADER N, NOONE AM, KRAPCHO M, et al. National Cancer Institute. Bethesda, MD based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER Web site, 2013

HEIDENREICH, A; BELLMUNT, J; BOLLA, M et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part I: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. **Eur Urol**. V.59, p.61-71, 2011

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

HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ et al. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes as risk factors associated to prostate cancer progression. **BMC Medical Genetics**. V.15:143, 2014.

HUANG, PW; LEE, C-H; LIN, P.L. Classifying pathological prostate images by fractal analysis. In: **Computational Intelligence in Image Processing**. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013, p.253-263.

HUANG et al. Gleason Score 3+4=7 Prostate Cancer With Minimal Quantity of Gleason Pattern 4 on Needle Biopsy Is Associated With Low-risk Tumor in Radical Prostatectomy Specimen. **Am J Surg Pathol**. V. 38, n. (8), 2014

HUSSEIN S et al. Young-age prostate câncer. **J Clin Pathol**. V.68, p.511–515, 2015.

INOUE, K; KURABAYASHI, A; SHUIN, T; OHTSUKI, Y; FURIHATA, M. Overexpression of p53 protein in human tumors. **Med Mol Morphol**. V.4, p.115-123, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2015.122 p. Disponível em:<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>. Acesso em 10/02/2016.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2014, 24p. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outrosdestaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf. Acesso em 09/12/2015.

JAKOB B; KODA S et al. TP53 Arg72Pro, mortality after câncer and all cause mortality in 105, 200 individuals. **Scientific Reports**. V. 7, n. (336), 2017.

JACOBS G et al. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of the *CDH1* gene are a risk fator for primary gastric diffuse large B-cell lymphoma. **Haematologica**. V. 96, n. 7, 2011.

JAMES, N. Clinical features and diagnosis of prostate câncer. **Primer on Prostate câncer**. V.8, n.14, 50 p, 2014

JEONG B. S; HU W; BELYI V; RABADAN R; LEVINE A. J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/ proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis. **FASEB J**. v. 24, p. 1347–1353, 2010.

JEMAL, A; SIEGEL, R; XU, J et al: Cancer statistics, 2010. **CA Cancer J Clin**. V. 60, p.277-300, 2010.

JO et al. Stratification of Contemporary Patients Undergoing Radical Prostatectomy for High-risk Prostate Cancer. **Ann Surg Oncol**. v.22, n. (6), p.2088-93, 2014.

JONSSON BA et al. γ -160C/A polymorphism in the *e-cadherin* gene promoter and risk of hereditary, familial and sporadic prostate cancer. **Int J Cancer**. V.109, n. (3), p.348-52, 2004

KADER, AK; SUN, J; ISAACS, SD et al. Individual and cumulative effect of prostate cancer risk-associated variants on clinicopathologic variables in 5,895 prostate cancer patients. **The Prostate**. V.69, n.11, p.1195-1205, 2009.

KATTO J; MAHLKNECHT U. Epigenetic regulation of cellular adhesion in câncer. **Carcinogenesis**. V.32, n. (10), p.1414-8, 2011.

- KAMOTO, T; ISOGAWA, Y; SHIMIZU, Y et al. Association of a genetic polymorphism of the E-cadherin gene with prostate cancer in a Japanese population. **J Clin Oncol.** V.35, p. 158–61, 2005.
- KARYADI et al. Confirmation of genetic variants associated with lethal prostate cancer in a cohort of men from hereditary prostate cancer families. **Int. J. Cancer.** V.136, n. 9, p. 2166–2171, 2014.
- KIMURA T. East meets West: ethnic differences in prostate cancer epidemiology between East Asians and Caucasians. **Chinese Anti Cancer Association.** v. 31, n. 9, p. 421-429, 2012.
- LI, LC; CHUI, RM; SASAKI, M; NAKAJIMA, K; PERINCHERY, G; AU, HC; NOJIMA, D; CARROLL, P; DAHIYA, R. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. **Cancer Res.** V. 60, p.873-6, 2000.
- LI H C et al. E-cadherin promoter polymorphisms are not associated with the aggressiveness of prostate cancer in Caucasian patients. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.** V.24, p. 496–502, 2006.
- LI G; PAN T et al. Regulatory Variants and Disease: The E-Cadherin –160C/A SNP as an Example. **Molecular Biology International.** 2014, 9 p.
- LINDSTRÖM S, WIKLUND F, JONSSON BA et al. Comprehensive genetic evaluation of common E-cadherin sequence variants and prostate cancer risk: strong confirmation of functional promoter SNP. **Hum Genet.** V.118, n.(3-4), p. 339-47, 2005.
- LÖBLER et al. Avaliação do Escore de Gleason como fator prognóstico em pacientes com câncer de próstata em hormonioterapia. **Rev Bras de Onc Clín.** V. 8, n., 2012.
- LOPES TR, SANTOS S, RIBEIRO-DOS-SANTOS A, et al. Population data of the 46 insertion-deletion (INDEL) *loci* in population in Piauí State, Northeastern Brazil. **Forensic Sci Int Genet.** V.9, p. 13-5, 2014.
- LORENZO G; SCOTT MA et al. Tissue-scale, personalized modeling and simulation of prostate cancer growth. **Proc Natl Acad Sci U S.** V. 113, n. (48), 2016.
- LU, Y; LIU, Y; ZENG, J; HE, Y; PENG, Q; DENG, Y; WANG, J; XIE, L; LI, T; QIN, X; LI, S. Association of p53 codon 72 polymorphism with prostate cancer: an update meta-analysis. **Tumor Biol.** V.35, n. 5, p.3997–4005, 2014.
- MAÎTRE JL; HEISENBERG CP. Three functions of cadherins in cell adhesion. **Curr Biol.** V. 23, n. (14), p.626-33, 2013.
- MI YY; ZHU LJ; YOU XM; WU S. Clarification of data for a meta-analysis: p53 codon 72 polymorphism and prostate cancer risk. **Genet. Mol. Res.** V.11, p.1958-1959, 2012.

MIRZAYANS, R; ANDRAIS, B; SCOTT, A; MURRAY, D. New insights into p53 signaling and cancer cell response to DNA damage: Implications for cancer therapy. **J Biomed Biotechnol.** 2012, 16pgs.

MEYER A et al. Apoptosis gene polymorphisms and risk of prostate cancer: A hospital-based study of German patients treated with brachytherapy. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.** V.31, p.74–81, 2013.

MITTAL RD, GEORGE GP, MISHRA J, MITTAL T, KAPOOR R. Role of Functional Polymorphisms of P53 and P73 Genes with the Risk of Prostate Cancer in a Case-Control Study from Northern India. **Archives of Medical Research.** v. 42, p. 122-127, 2011.

MOHAMMAD HAROON KHAN et al. Association of rs1042522 Polymorphism with Increased Risk of Prostate Adenocarcinoma in the Pakistani Population and its HuGE Review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.** V. 15, 2014.

MURPHY ME, Leu JI, George DL. p53 moves to mitochondria: a turn on the path to apoptosis. *Cell Cycle.* V. 3, n.7, p. 836-839, 2004.

NARITA et al. Reassessment of the risk factors for biochemical recurrence in D'Amico intermediate-risk prostate cancer treated using radical prostatectomy. **International Journal of Urology.** Vol. 22, p.1029-1035, 2015.

NICKEL JC. Inflammation and benign prostatic hyperplasia. **Urol Clin North Am.** V. 35, p. 109– 15,2008.

PAREDES J et al. Epithelial E- and P-cadherins: Role and clinical significance in câncer. **Biochimica et Biophysica Acta.** V.1826, p. 297–311, 2012.

PERDANA N R. The Risk Factors of Prostate Cancer and Its Prevention: A Literature Review. **The Indonesian Journal of Internal Medicine.** V. 48, n. (3), 2016.

PIERORAZIO et al. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. **BJU International,** v. 111, p. 753–760, 2013.

POOKOT D. et al. The E-Cadherin _160 C/A Polymorphism and Prostate Cancer Risk in White and Black American Men. **J Urol.** V.176, n. (2),p. 793-6, 2006.

PRON G. Prostate-specific antigen (PSA) based population screening for prostate cancer: an evidence-based analysis. **Ont Health Technol Assess Ser.** V.5, n.10, p.1–64, 2015.

PUNNEN S; COOPERBERG MR. The epidemiology of high-risk prostate câncer. **Current Opinion in Urology.** V. 23, n. (4), 2013.

QUIÑONES L A et al. Joint effect among *p53*, *CYP1A1*, *GSTM1* polymorphism combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study. **Asian J Androl.** V.8, n. (3), p.349–355, 2006.

QIU L-X 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.

QI-WEN DENG et al. **Roles of E-Cadherin (CDH1) Genetic Variations in Cancer Risk: a Meta-analysis.** **Asian Pac J Cancer Prev**. V.15, n (8), p.3705-3713, 2014.

RICKS-SANTI et al. p53 Pro72Arg Polymorphism and Prostate Cancer in Men of African Descent. **Prostate**. V.70, n.16, p.1739–1745, 2010.

RODRIGUEZ, F.J., LEWIS-TUFFIN, L.J. AND ANASTASIADIS, P.Z. E-cadherin's dark side: Possible role in tumor progression. **Biochim. Biophys. Acta**.1826, p.23–31, 2012.

ROGLER A, ROGENHOFER M, BORCHARDT A et al. P53 Codon 72 (Arg72Pro) Polymorphism and Prostate Cancer Risk: Association between Disease Onset and Proline Genotype. **Pathobiology**. V.78, p.193–200, 2011.

SAID R; YE Y; HONG DS; JANKU F. Characteristics and survival of patients with advanced cancer and p53 mutations. **Oncotarget**. V. 5, n. (11), 2014.

SAINI. PSA and beyond: alternative prostate cancer biomarkers. **Cell Oncol (Dordr)**. Vol. 39, n. (2), p.97–106, 2016.

SCHAID, D J. The complex genetic epidemiology of prostate cancer. **Human Molecular Genetics**. V. 13, n.1, 2004.

SCHNEIDER M. R; KOLLIGS F. T. E-cadherin's role in development, tissue homeostasis and disease: Insights from mouse models. **Bioessays**. V.37, n. (3), p.294-304, 2015.

STEPHAN et al. Prostate-specific antigen and other serum and urine markers in prostate cancer. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1846, n. (1), p. 99-112, 2012.

SIVOŇOVÁ et al. p53 and p21 polymorphisms and prostate cancer risk. **Biomedical reports**. V. 3, p. 707-714, 2015

SMITH, RA; COKKINIDES, V; EYRE, HJ. Cancer screening in the United States 2007: a review of current guidelines, practices, and prospects. **CA Cancer J Clin**. V.57, p.90–104, 2007.

SUN, J; CHANG, BL; ISAACS, SD; WILEY, KE et al. Cumulative effect of five genetic variants on prostate cancer risk in multiple study populations. **Prostate**. V.68, n.12, p.1257–1262, 2008.

SUN T; LEE GS et al. Single-Nucleotide Polymorphisms in p53 Pathway and Aggressiveness of Prostate Cancer in a Caucasian Population. **Clin Cancer Res**. V.16, n. (21), 2010.

SUPIT W, MOCHTAR CA, SANTOSO RB, UMBAS R. Outcomes and predictors of localized or locally-advanced prostate cancer treated by radiotherapy in Indonesia. **Prostate Int.** 2013;1(1):16-22

SUZUKI, K; MATSUI, H; OHTAKE, N; NAKATA, S et al. A p53 codon 72 polymorphism associated with prostate cancer development and progression in Japanese. **J Biomed Sci.** v.10, p.430–435, 2003.

TSUKINO H, Kuroda Y, Imai H, et al. Lack of evidence for the association of E-cadherin gene polymorphism with increased risk or progression of prostate cancer. **Urol Int.** v.72, p.203–7, 2004.

ROY VF; BERX, G. The cell-cell adhesion molecule Ecadherin. **Cell Mol Life Sci.** V.65, p. 3756–3788, 2008.

XU B et al. Association between polymorphisms of TP53 and MDM2 and prostate cancer risk in southern Chinese. **Cancer Genetics and Cytogenetics.** V.202, p.76-81, 2010.

WANG L et al. Contribution of the -160C/A Polymorphism in the Ecadherin Promoter to Cancer Risk: A Meta-Analysis of 47 Case-Control Studies. **PLoS ONE.** V.7, n. (7), 2012.

WANG et al. The E-cadherin Gene Polymorphism _160C/A and Cance Risk: A HuGE Review and Meta-Analysis of 26 Case-Control Studies. **Am J Epidemiol.** V.167, p.7–14, 2008.

WANG, L; WAN, G; LU, C; FENG, B; KANG J. Contribution of the -160C/A Polymorphism in the E-cadherin Promoter to Cancer Risk: A Meta-Analysis of 47 Case-Control Studies. **Plos One.** V. 7, n.7, 2012.

WHITELAND H; SPENCER-HARTY S. Putative prognostic epithelial-to-mesenchymal transition biomarkers for aggressive prostate câncer. **Exp Mol Pathol.** V. 95, n. (2),p. 220-6, 2013.

WU HC et al. p53 Gene Codon 72 Polymorphism but Not Tumor Necrosis Factor-· Gene Is Associated with Prostate Cancer. **Urol Int.** V.73, p.41–46, 2004.

Z - Q, TAO; A, M, SHI; K, X, WANG; W, D, ZHANG. Epidemiology of prostate cancer: current status. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.** V.19, n. 5, p.805-812, 2015.

ZHANG, W; ZHU, O, L. Polymorphisms of TP53 codon 72 with prostate carcinoma risk: a meta-analysis. **Med Oncol.** v. 27, p.540–546, 2010

ZHENG, SL; SUN, J; WIKLUND, F; SMITH, S et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. **N Engl J Med.** V.358, n. 9, p.910–919, 2008.

ZHOU et al. P53 codon 72 polymorphism and gastric cancer: A meta-analysis of the literature. **Int. J. Cancer.** V.121, p. 1481–1486, 2007

ZHU, Y; WANG, J. Association of p53 codon 72 polymorphism with prostate cancer: a meta-analysis. **Mol Biol Rep.** V.38, p. 1603–1607, 2011.

YANG BO; HE YI et al. Effect of E-Cadherin (CDH1) -160C/A polymorphism on prostate cancer risk: a meta-analysis. **BioArXiv**, 2015.