

FIOCRUZ

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANCESTRALIDADE GENÉTICA E GENES DE SUSCEPTIBILIDADE EM
PORTADORES DE CÂNCER DE PRÓSTATA DO ESTADO DA BAHIA**

Polyanna Carôzo de Oliveira

Salvador - Bahia - Brasil
2014

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

**ANCESTRALIDADE GENÉTICA E GENES DE
SUSCEPTIBILIDADE EM PORTADORES DE CÂNCER DE
PRÓSTATA DO ESTADO DA BAHIA**

POLYANNA CARÔZO DE OLIVEIRA

Orientadora: Prof^a Dr^a. Kiyoko Abe Sandes

Co- Orientadora: Prof^a Dr^a. Ivana Lúcia de Oliveira Nascimento

Dissertação apresentada Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Bahia - Brasil

2014

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

O48a Oliveira, Polyanna Carôzo de
Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de câncer de próstata do Estado da Bahia [manuscrito] / Polyanna Carôzo de Oliveira . - 2013.
82 f.: il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2013.
Orientador: Prof^a. Dr^a. Kiyoko Abe Sandes. Laboratório Avançado de Saúde Pública.

1. Câncer de próstata. 2. Suscetibilidade genética. 3. Genes. 4. Bahia. I.Título.
CDU 616-006.6(813.8)

**“ANCESTRALIDADE GENÉTICA E GENES DE SUSCEPTIBILIDADE EM PORTADORES DE
CÂNCER DE PRÓSTATA DO ESTADO DA BAHIA”**

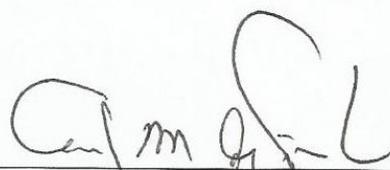
POLYANNA CARÔZO DE OLIVEIRA

FOLHA DE APROVAÇÃO

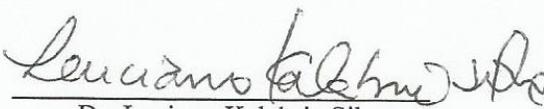
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr.^a Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho
Professor adjunto
UFBA



Dr. Luiz Antônio Rodrigues de Freitas
Pesquisador Titular
CPqGM/FIOCRUZ



Dr. Luciano Kalabric Silva
Pesquisador Titular
CPqGM/FIOCRUZ

"...somos um mar de fogueirinhas...

Cada pessoa brilha com luz própria entre todas as outras. Não existem duas fogueiras iguais.

Existem fogueiras grandes e fogueiras pequenas e fogueiras de todas as cores. Existe gente de fogo sereno, que nem percebe o vento, e gente de fogo louco, que enche o ar de chispas. Alguns fogos, fogos bobos, não alumiam nem queimam; mas outros incendeiam a vida com tamanha vontade que é impossível olhar para eles sem pestanejar, e quem chegar perto pega fogo."

Eduardo Galeano

Aos meus pais, Gina e Pedro, que me deram suporte para chegar até aqui e aos pacientes de Câncer de Próstata que me ensinaram a olhar a vida de um modo muito mais especial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois nEle tenho depositado toda a minha confiança e Ele tem me sustentado todos os dias de minha vida e foram pelos planos que Ele fez para mim que eu consegui chegar até aqui;

Aos meus pais Gina e Pedro por todo apoio, amor incondicional e carinho que me fortalece todos os dias mesmo com a distância. Eles são a minha inspiração todos os dias da minha vida, sem eles eu não seria nada.

A Marcel Lemos, por todo incentivo, paciência e companheirismo, nos momentos de desespero, mas também das alegrias, me tranquilizou as palavras certas nas horas exatas.

A toda minha família, tia Edna, tio David, tio Edinho, Luciene, Bruna, Juliana, Sofia, Edinho, Eduardo, Júnior que fazem parte do meu porto seguro onde eu sempre encontro carinho e me fortaleço.

A minha prima e irmã, Danielle por todo companheirismo e amizade, estivemos sempre juntas em todos os momentos da vida e mesmo agora com a distância, acompanhamos e demos força uma a outra.

As minhas amigas Ane, Nayara e Poliana Moura que acompanharam toda minha caminhada até aqui e que são pessoas muito especiais na minha vida.

A amiga Lis pela presença sempre constante, pela morada que me concedeu durante minha fase inicial do mestrado, pelo companheirismo de sempre, pelas conversas, pelo apoio.

Pelos colegas de laboratório Gaby Manzoli, Gaby Felix, Taise, Daniel, Camila, Letícia, Selma, Thaís, Rafa e Marcos, que fizeram com que o ambiente de trabalho fosse sempre prazeroso.

As doutoras Thaís e Taisa que me ensinaram tudo sobre as técnicas de laboratório e pacientemente me acompanharam durante todas as etapas deste trabalho, foram também minhas orientadoras de coração.

Aos estagiários: Laércio, Jéssica, Mariana, Luana, Gabriela e Letícia que me ajudaram com as coletas e com a rotina do laboratório.

A minha orientadora Professora Kiyoko, pela confiança, paciência, ajuda, atenção, disponibilidade durante esses dois anos. Há um ditado que diz, “quando o discípulo está pronto, o mestre aparece”. Ela é, sem dúvidas, uma grande mestra e orientadora que apareceu em minha vida de modo muito especial. Obrigada professora!

A minha co orientadora, Professora Ivana, que sempre foi muito atenciosa com esse trabalho de modo direto, buscando os pacientes, mas também me ensinando sobre essa complexa doença que é o câncer de próstata.

A todos os parceiros desse trabalho, todos os hospitais, clínicas e laboratórios que permitiram a realização das coletas e aos médicos, enfermeiros, técnicos que facilitaram as atividades.

Aos participantes da pesquisa, os quais, voluntariamente contribuíram para que este trabalho fosse realizado e depositaram a confiança em mim e na equipe para que pudéssemos participar um pouco da suas vidas.

Aos meus alunos, pela compreensão, especialmente nos últimos dias em que estive envolvida com a escrita da dissertação e me precisei me ausentar da sala de aula.

A UFBA, pelo apoio estrutural, especialmente ao Professor Roberto Meyer, responsável pelo Laboratório de Imunologia, local onde realizamos a parte laboratorial.

A Fiocruz, pelo apoio acadêmico e financeiro.

A todos que contribuíram de algum modo para que este trabalho fosse realizado.

OLIVEIRA, Polyanna Carôzo de. Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de câncer de próstata do estado da Bahia. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2013.

RESUMO

O Câncer de Próstata (CaP) é um dos tipos de neoplasias mais frequentes nos homens em todo o mundo e também na população masculina brasileira. A incidência, mortalidade e agressividade do CaP são maiores em homens negros. De acordo com o IBGE a Bahia é o estado que apresenta a maior porcentagem de população afrodescendente e os indivíduos que moram em Salvador apresentam maior ancestralidade africana que os nascidos no interior do estado. O presente estudo verificou a associação entre maior ancestralidade genética africana e genes de susceptibilidade ao CaP em pacientes do estado da Bahia oriundos do setor particular e público de serviço à saúde. Participaram do estudo 189 homens com CaP, sendo 82 atendidos no serviço privado e 107 no serviço público e 112 homens saudáveis atendidos no serviço público. Foram utilizados 9 marcadores informativos de ancestralidade (AIM) para estimar a ancestralidade genética e quatro genes de susceptibilidade: *CYP3A4*, *CYP17*, *GSTM1* e *GSTT1*. No grupo caso houve maior contribuição europeia (47%) e no grupo controle maior contribuição africana (43%). Entre os genes de susceptibilidade, observou-se que o genótipo GG, bem como a associação dos genótipos GG+AG na variante *CYP3A4*-392 A>G estiveram relacionados ao aumento do risco de CaP tanto de modo global, bem como em indivíduos com maior ancestralidade africana, além de estarem associado positivamente com o aumento da agressividade do tumor para esta população. A variante *CYP17*-34 T>C não apresentou relação com aumento do risco para o CaP entre casos e controles, mas ao estratificar a população observou-se maior risco associado ao genótipo heterozigoto (TC) em indivíduos com maior contribuição africana, mas não houve relação entre a variante e o aumento da agressividade do tumor. Por fim, o genótipo *GSTM1*-0 esteve associado ao aumento do risco para o CaP de modo geral, mas não esteve relacionado com o aumento da agressividade do tumor. Estes resultados podem auxiliar estudos de associação entre CaP e maior susceptibilidade de populações afrodescendentes e assim, ajudar na melhoria das estratégias em torno de programas de saúde que visem ampliar a triagem e o diagnóstico precoce para esta populações mais vulneráveis.

Palavras-chave: Câncer de próstata, Suscetibilidade genética, Genes.

OLIVEIRA, Polyanna Carôzo de. Genetic ancestry and susceptibility genes in patients with Prostate Cancer in the Bahia, Brazil. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2013.

ABSTRACT

Prostate cancer (PCa) is one of the most common types of cancer in men worldwide and also in Brazilian male population. The incidence, mortality and PCa aggressiveness are higher in black men. According to the IBGE, Bahia is the state with the highest percentage of people of African descent and people who live in Salvador has the largest African ancestry born in the state. The present study sought to determine the association between African ancestry and greater susceptibility genes in PCa patients of Bahia state from public and private sector health service. The study included 189 men with PCa, 82 served in the private and 107 public service and 112 healthy men served in the public service. We used ancestry informative markers 9 (AIM) to estimate genetic ancestry and 4 susceptibility genes, among them: *CYP3A4*, *CYP17*, *GSTM1* e *GSTT1*. The case group was greater European contribution (47%) in the control group and largest African contribution (43%). Between susceptibility genes, it was found that the GG genotype, and the association of the genotypes GG + GA in *CYP3A4*-392A>G variant were associated with an increased risk of PCa so both overall as well as for individuals with higher African ancestry, and are positively associated with increased tumor aggressiveness for this population. The variant *CYP17*-34T>C gene was not associated with increased risk for PCa between cases and controls, but to stratify the population was more strongly associated with the risk genotype (TC) in subjects with higher African contribution, but there was no relationship between the variant and increased tumor aggressiveness. Finally, *GSTM1*-0 genotype was associated with increased risk for CaP generally, but not correlate with increasing tumor aggressiveness. These results may help studies of association between PCa and greater susceptibility of African descent populations and thus help improve strategies around health programs aimed at increasing screening and early diagnosis for this most vulnerable populations.

Keywords: Prostate Cancer, Genetic Susceptibility, Genes

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Localização anatômica da próstata na pelve.....	13
Figura 2	Anatomia zonal da próstata.....	14
Figura 3	Diagrama do padrão de Gleason.....	18
Quadro 1	Sistema de estadiamento TNM para o câncer de próstata.....	19
Quadro 2	Sistema de estadiamento AJCC para o câncer de próstata.....	19
Quadro 3	Estratificação do risco para o CaP.....	20
Figura 4	Metabolismo da testosterona com destaque para os genes <i>CYP3A4</i> e <i>CYP17</i>	25
Quadro 4	AIMs, rs, localização citogenética, população ancestral com maior frequência do alelo*1, tipo do polimorfismo e metodologia utilizada para análise dos AIMs.....	36
Quadro 5	Sequência dos <i>primers</i> , temperatura de pareamento e tamanho do segmento amplificado dos AIMs estudados.....	37
Figura 4	Padrão de bandas observado para o <i>locus AT3-ID</i>	39
Figura 5	Padrão de bandas observado para o <i>locus APO</i>	39
Figura 6	Padrão de bandas observado para o <i>locus SB19.3</i>	39
Figura 7	Padrão de bandas observado para o <i>locus PV92</i>	39
Figura 8	A – Quantidade de fluorescência capturada durante a amplificação (PCR em Tempo Real) de um genótipo heterozigoto pelas sonda que correspondem aos alelos. B – Gráfico de discriminação alélica	40
Figura 9	Padrão de bandas observado para o <i>locus CYP3A4</i>	41
Figura 10	Padrões de banda para o <i>locus CYP17</i>	41
Quadro 6	Metodologia empregada para análise de cada gene de suscetibilidade e seus respectivos <i>primers</i> e as enzimas utilizadas.....	42
Manuscrito		
Gráfico 1	Estimativa média da contribuição da ancestralidade africana, europeia e ameríndia para casos e controles.....	48
Figura 1	Contribuição da ancestralidade africana, europeia e ameríndia para indivíduos com e sem CaP.....	50

LISTA DE TABELAS

Manuscrito

Tabela 1	Características gerais da amostra	49
Tabela 2	Frequências do alelo *1 dos AIMs nas populações ancestrais, nos indivíduos com e sem CaP.....	50
Tabela 3	Comparação entre os métodos de classificação racial/ancestral da população	51
Tabela 4	Estratificação das características da população segundo a ancestralidade	52
Tabela 5	Frequência genotípica dos marcadores de suscetibilidade em casos e controles	53
Tabela 6	Frequência genotípica dos marcadores de suscetibilidade nos casos com CaP e nos controles saudáveis estratificados por ancestralidade africana e europeia.....	54
Tabela 7	Comparação entre frequência genotípica e agressividade do tumor nos grupos estratificados por ancestralidade africana e europeia.....	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.3 GLÂNDULA PROSTÁTICA	14
1.2 CÂNCER DE PRÓSTATA	15
1.2.1 Epidemiologia	16
1.2.2 Diagnóstico	16
1.2.3 Indicadores Prognósticos	17
1.2.3.1 PSA	17
1.2.3.2 Grau Histológico (Gleason)	18
1.2.3.3 Estadiamento	19
1.2.3.4 Classificação do risco	20
1.2.4 Fatores de risco	21
1.2.4.1 Idade	21
1.2.4.2 História familiar	21
1.2.4.3 Hábitos alimentares e obesidade	22
1.2.4.4 Raça	22
1.3 FATORES ASSOCIADOS ÀS ELEVADAS TAXAS DE CAP EM HOMENS NEGROS	23
1.3.1 Nível socioeconômico	23
1.3.2 Genes de suscetibilidade	24
1.3.2.1 CYP 3A4 e CYP17	24
1.3.2.2 GST	25
1.3.3 Obesidade	28
1.4 ANCESTRALIDADE	29
1.4.1 Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIM)	30
1.4.1.1 Inserção/Deleção (SERPINC1 - AT3)	30
1.4.1.2 Inserções Alu (SB19.3, APO e PV92)	30
1.4.1.3 Marcadores SNP (FY-null, LPL, CKMM e GC)	31
2 OBJETIVOS	34
2.1 GERAL	24

3.2	ESPECÍFICOS	34
3	MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1	SELEÇÃO DA AMOSTRA	35
3.2	DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E DE ANCESTRALIDADE	35
3.2.1	Autodenominação de raça/cor e ancestralidade referida	36
3.2.2	Ancestralidade fenotípica (classificação racial fenotípica)	36
3.2.3	Extração de DNA	36
3.3	GENOTIPAGEM DOS AIMs	36
3.3.1	Genotipagem dos polimorfismos <i>indel</i> e inserções <i>Alu</i>	37
3.3.2	Genotipagem do polimorfismo no gene <i>GC</i>	38
3.3.3	Genotipagem do polimorfismo nos genes <i>CKMM</i> , <i>LPL</i> e <i>DARC</i>	40
3.4	GENE DE SUSCEPTIBILIDADE AO TUMOR	40
3.4.1	<i>CYP3A4</i> e <i>CYP17</i>	40
3.4.2	<i>GSTT1</i> e <i>GSTM1</i>	42
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
3.6	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1	MANUSCRITO - Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de Câncer de Próstata do estado da Bahia	45
5	CONCLUSÕES	63
	REFERÊNCIAS	64
	APÊNDICES	74
	ANEXOS	81

1. INTRODUÇÃO

1.1 Glândula prostática

A próstata é uma glândula exócrina que compõe o sistema reprodutor masculino e está localizada anteriormente ao reto e inferiormente à bexiga, circundando parte da uretra (Figura 1). Ao redor da glândula há um estroma formado por fibroblastos, músculo liso, nervos e vasos linfáticos. Sua função é produzir um fluido de pH alcalino que compõe parte do sêmen, o líquido prostático que protege, nutre e facilita a locomoção dos espermatozoides. Na região posterior da glândula, são localizadas as vesículas seminais que formam a maioria do fluido de sêmen e se ligam à próstata pelo ducto ejaculatório (SAMPAIO, 1999).

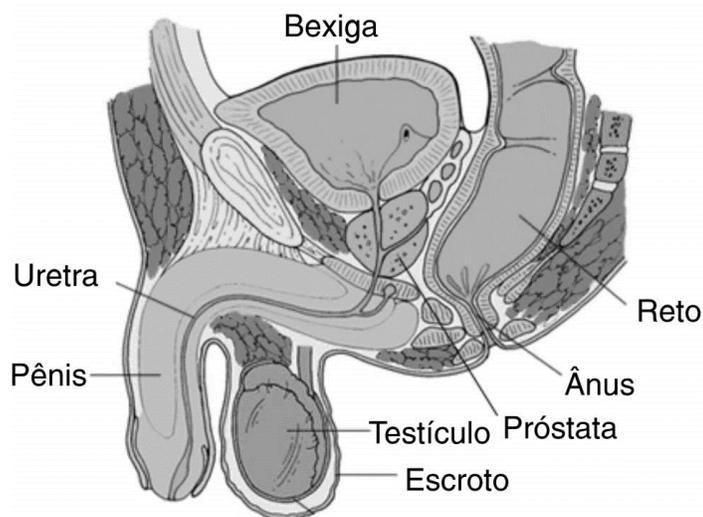


Figura 1- Localização anatômica da próstata na pelve.

FONTE: <http://drscarpa.site.med.br/index.asp?PageName=Doen-E7as-20da-20Pr-F3stata>

A próstata é formada por várias zonas histológicas distintas (Figura 2): a zona central, que rodeia os canais ejaculadores, por onde o esperma vai passar para a uretra (cerca de 25% do órgão); a zona de transição, onde se desenvolve o aumento benigno ou hiperplasia benigna da próstata (5 a 10% da próstata normal); zona periférica, de onde mais frequentemente se originam

os tumores malignos ou câncer da próstata (e que corresponde a 70% da próstata normal) e a zona ou estroma fibromuscular anterior, parte não glandular, composto por tecido muscular e fibroso (SAMPAIO, 1999).

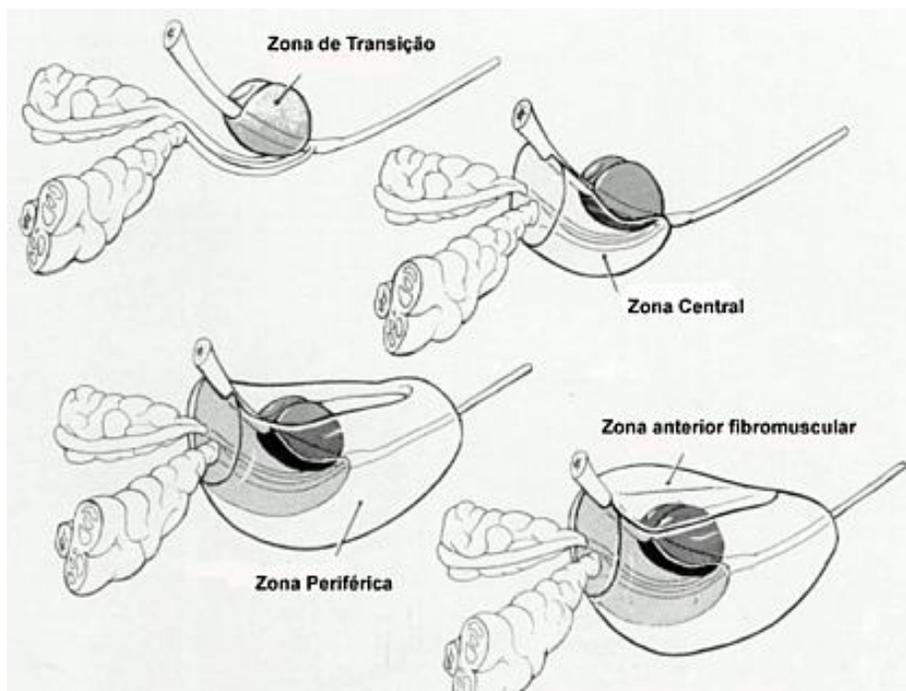


Figura 2 -Anatomia zonal da próstata

FONTE: <http://urologia-on-line.blogspot.com.br/2009/10/hiperplasia-prostatica-benigna.html>

Após a puberdade, a próstata apresenta grande desenvolvimento e a partir da quinta década de vida tem grande propensão à alterações patológicas, como a prostatite, a hiperplasia prostática benigna e o câncer de próstata (CaP). A cápsula fibromuscular ao redor da próstata é considerada um limite anatômico para o estadiamento e prognóstico do CaP. Com o crescimento do nódulo hiperplásico, o estroma fibromuscular é englobado, resultando em distorção da arquitetura prostática. O tecido glandular periférico à hiperplasia fica comprimido, formando o plano de clivagem denominado cápsula cirúrgica e que é utilizado durante o tratamento cirúrgico como guia para retirada do nódulo da hiperplasia. No CaP, este plano de clivagem, ou cápsula cirúrgica, não se forma, pois, normalmente, o CaP desenvolve-se na zona periférica apresentando crescimento multidirecional (CERRI et al., 1996).

1.2 Câncer de Próstata

1.2.1 Epidemiologia

As projeções feitas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam que os casos de câncer deverão aumentar a cada ano. Para o ano 2030, são esperados 27 milhões de casos incidentes e 17 milhões de mortes por câncer, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil que estimou para 2013 a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer (BRASIL, 2011).

Entre todos os tipos de câncer, o CaP é a quinta neoplasia mais frequentes no mundo. Para os homens, ela é a segunda mais frequente e a sexta responsável por mortes. As taxas de incidência do CaP variam mais do que 70 vezes em todo o mundo. As taxas mais altas foram registradas principalmente nos países desenvolvidos da Europa, América do Norte e Oceania, em grande parte, porque a avaliação do antígeno prostático específico (PSA) é amplamente utilizada e detecta clinicamente tumores importantes, bem como outros nódulos de crescimento lento que poderiam ter escapado no exame de toque. As menores taxas foram observadas em diversas regiões da Ásia (WHO, 2008).

No Brasil, entre os homens, o CaP também é a segunda neoplasia mais comum e a segunda em número de mortes. De acordo com os dados do INCA, foram estimados 46.330 novos casos de CaP no Brasil para 2005, 49.530 casos para 2008 e para 2013 a estimativa é que ocorram mais de 60.000 novos casos com risco estimado de 62 casos novos para cada 100.000 homens/ano. No Nordeste, a estimativa de ocorrência de novos casos para o CaP foi 43/100.000 homens/ano e para a Bahia foi 40/100.000 homens/ano (BRASIL, 2004, 2007, 2011).

O aumento da incidência do CaP no Brasil deve-se a dois fatores: envelhecimento da população, traduzido pelo aumento da expectativa de vida, e melhora das técnicas diagnósticas e da qualidade dos sistemas de informação (BRASIL, 2011).

1.2.2 Diagnóstico

A maioria dos tumores iniciais da próstata é assintomático e o diagnóstico precoce é realizado através de exames periódicos de dosagem do antígeno prostático específico (PSA) e do

exame físico ou toque retal da próstata. Estes exames podem indicar a existência da doença, necessitando da realização de uma ultrassonografia transretal (USTR), que por sua vez, poderá sugerir a realização da biópsia prostática transretal. A periodicidade do teste de PSA e do toque retal é motivo de discussão, mas a maioria dos consensos sugere testes anuais entre os 50 e 80 anos (SBU, 2010).

A maioria dos tumores da próstata é localizado na zona periférica e podem ser detectados através do toque retal quando o volume tumoral é maior ou igual a 0,2 ml. Porém, o PSA alterado tem sido considerado o melhor preditor de câncer quando comparado com o toque retal e o USTR. Em 18% dos pacientes o diagnóstico é feito somente com alteração ao toque, mas 45% dos diagnósticos são feitos somente com alterações no PSA (RICHIE et al., 1993).

1.2.3 Indicadores Prognósticos

Após o diagnóstico da doença é importante avaliar qual o estágio em que o câncer se encontra para que decisões terapêuticas sejam escolhidas. Os parâmetros clinico-patológicos mais utilizados para o prognóstico do CaP são: valor do PSA, o grau histológico e o estadiamento (SBU, 2006).

1.2.3.1 PSA

O PSA é uma glicoproteína de cadeia simples que pertence à família das caliceínas e é produzida quase que exclusivamente pelas células epiteliais prostáticas (WANG, 1979). Ele é uma protease órgão-específica e seus níveis séricos podem estar elevados na presença de hiperplasia prostática benigna, prostatite e outras condições não neoplásicas (CATALONA et al., 1994).

De uma maneira geral, considera-se PSA alto o valor maior do que 4 ng/ml no soro, sendo uma indicação para biópsia. Quando este valor se situa entre 4 e 10 ng/ml, há uma possibilidade de CaP em cerca de 30% dos casos e, se este nível é superior a 10 ng/ml, as chances aumentam em cerca de 70%. Ao mesmo tempo, o PSA dentro da faixa de referência (até 4 ng/ml) não afasta a possibilidade de câncer. Aproximadamente 20% dos pacientes com CaP podem apresentar nível de PSA sérico dentro dos valores de referência, não descartando portanto, a necessidade do

exame de toque e, dependendo deste, a necessidade de outros procedimentos complementares como a ultra-sonografia transretal por exemplo (DAMIÃO; CARRETIE, 1997).

1.2.3.2 Grau Histológico (Escore de Gleason)

O grau histológico do CaP é classificado através do escore de Gleason, sistema desenvolvido por Donald F. Gleason em 1974 e que foi recomendado pela OMS em 1993. Este escore é utilizado para classificar a extensão da doença, particularmente com o risco de acometimento extraprostático. Para tanto, os patologistas atribuem uma pontuação de 2 a 10 com base nos padrões de arquitetura dos tecidos. Considera-se que tumores com escore de Gleason igual ou maior que 7 são biologicamente agressivos e apresentam crescimento rápido, com escore 5 ou 6, tumores com agressividade e crescimento intermediários e tumores com escore 2 e 4, com agressividade biologicamente menor e crescimento lento (BRASIL, 2002).

O escore final é uma combinação de dois valores diferentes que refletem o grau histológico da doença baseando-se no distanciamento entre as células neoplásicas e as células normais em duas regiões diferentes do tumor. O aspecto histológico da material coletado é classificado em grau 1 a grau 5, conforme os critérios apresentados a abaixo: (Figura 3).

Grau 1 - A próstata cancerosa se parece muito com o tecido normal. As glândulas são pequenas, bem formadas e muito próximas, compactas e menos invasiva, lembrando que suas células já apresentam anaplasia.

Grau 2 - O tecido ainda possui glândulas bem formadas, mas elas são maiores e possuem mais tecido entre si (estroma).

Grau 3 - O tecido ainda possui glândulas reconhecíveis, com disposição mais aleatória e as células são mais escuras, devido ao seu caráter mais acidófilo pela intensa mitose e alterações no núcleo. Algumas destas células deixam as glândulas e começam a invadir o tecido circundante.

Grau 4 - O tecido possui poucas glândulas reconhecíveis. Muitas células estão invadindo o tecido circundante. Começa a haver perda da característica estrutural de uma glândula prostática, com oclusão da luz nas glândulas e os núcleos hipercorados.

Grau 5 - O tecido não possui glândulas reconhecíveis e ocorre perda total da arquitetura glandular.

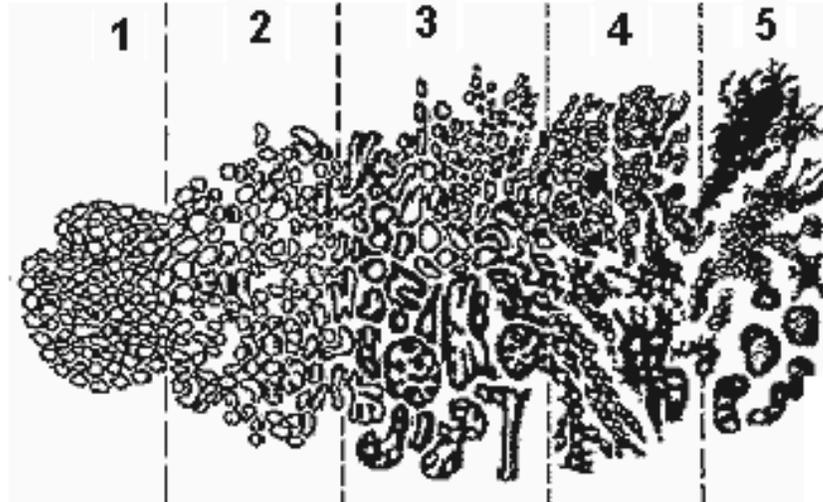


Figura 3 - Diagrama do padrão de Gleason (1-muito bem diferenciado; 2- bem diferenciado; 3- moderadamente diferenciado; 4- pouco diferenciado; 5- muito pouco diferenciado)

FONTE: <http://urologia-on-line.blogspot.com.br/2009/10/hiperplasia-prostatica-benigna.html>

1.2.3.3 Estadiamento

A determinação do estágio do CaP significa o quão longe o câncer se espalhou. A avaliação do estadiamento do CaP é baseado em dois sistemas. O Sistema TNM, adotado a partir de 1994, descreve a extensão anatômica da doença e tem por base a avaliação de três componentes: **T** - a extensão do tumor primário; **N** - a ausência ou presença e a extensão de metástase em linfonodos regionais e **M** - a ausência ou presença de metástase à distância. A adição de números a estes três componentes indica a extensão da doença maligna (Quadro 1) (BRASIL, 2004). Em 2002, o “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) revisou a classificação do sistema TNM adicionando a ele o grau de diferenciação da neoplasia (grau de Gleason) e agrupando o CaP em estádios de I a IV (Quadro 2) (GREENE et al., 2002).

T1 T1a T1b T1c	Não palpável ou visível ≤ 5% > 5% Biópsia por agulha
T2 T2a T2b T2c	Tumor confinado à próstata ≤ metade de um lobo > metade de um lobo Ambos os lobos
T3 T3a T3b	Através da cápsula prostática Extracapsular Vesícula(s) seminal(ais)
T4	Fixo ou invade estruturas adjacentes: colo vesical, esfíncter externo, reto, músculos elevadores do ânus, parede pélvica
N1 N1a N1b N2c	Linfonodo(s) regional(is) Linfonodo(s) não regional(is) Osso(s) Outra(s) localização(ões)

Quadro 1- Sistema de estadiamento TNM para o CaP.
Fonte: BRASIL (2004).

Estágio	T	N	M	Gleason
I	1a	0	0	Baixo (2-4)
II	1a,	0	0	Intermediário ou Alto (5-10) (2-10)
	1b, 1c, 2	0	0	
III	3	0	0	(2-10)
IV	4	0	0	(2-10)
	1-4	1	0	(2-10)
	1-4	1 ou 2	1	(2-10)

Quadro 2 – Sistema de estadiamento AJCC para o CaP.
Fonte: GRENE et al. (2002).

1.2.3.4 Classificação do risco de progressão e agressividade

O método mais fácil e mais comumente utilizado para avaliação de prognóstico e para escolha do melhor tratamento é a estratificação do risco de progressão e agressividade do CaP, desenvolvido por D'Amico e colaboradores (1998) no qual os pacientes são classificados nas categorias: baixo, intermediário e alto risco/agressividade com base no valor de PSA pré-

operatório, estágio clínico e escore de Gleason (Quadro 3). Porém, considerando apenas o Gleason, pode-se simplificar essa classificação em: doença menos agressiva, quando o Gleason ≤ 7 e mais agressiva, quando o Gleason >7 (BANGSI et al., 2006).

Risco	Estadiamento		Gleason		PSA
Baixo	T1-T2a	e	2 - 6	e	< 10
Intermediário	T2b-T3a	ou	7	ou	10 – 20
Alto	> T3a	ou	> 7	ou	> 20

Quadro 3 – Estratificação do risco para o CaP.
Fonte: D’Amico et al. (1998)

1.2.4 Fatores de risco

Existem três fatores de risco associados ao CaP bem descritos na literatura: idade, raça e história familiar.

1.2.4.1 Idade

O mais evidente fator de risco para o CaP é a idade. Cerca de 80% dos pacientes são diagnosticados após 65 anos (GRÖNBERG, 2003). Em torno de 60% dos homens acima dos 80 anos apresentam neoplasia primária da próstata quando a glândula é estudada através de cortes seriados. E a expectativa é que esse tumor deverá acometer todos os homens que chegarem aos 100 anos (SROUGI, 1999).

Um estudo realizado pela Vigilância Epidemiológica dos Estados Unidos avaliando dados de 2000 a 2008 revelou que a taxa de incidência do CaP para homens com idade entre 40-44 anos foi 9,2 casos para cada 100.000 homens/ano e que essa taxa se elevou para 984,8/100.000 homens/ano entre homens na faixa etária de 70 a 74 anos (HOWLADER et al., 2012).

1.2.4.2 História familiar

A história familiar é também um fator de risco primário para essa neoplasia, porém apenas 5 a 10% dos casos de CaP podem ser explicados a partir de alterações em genes de

susceptibilidade (COUGHLIN; HALL, 2002). De acordo com Srougi (1999), o risco aumenta 2 vezes quando um parente de 1º grau (pai ou irmão) é acometido pelo problema, 5 vezes com dois parentes de 1º grau e 10 vezes com três parentes de 1º grau.

Além disso, foi observado que na existência de história familiar positiva para CaP, o aparecimento desta neoplasia ocorre mais precocemente. No estudo conduzido por Grönberg e colaboradores (1999), em 5.706 filhos de homens suecos que tinham diagnóstico de CaP, foi mostrado que, enquanto o risco cumulativo para CaP na população em geral com idade de 60, 70 e 80 anos é respectivamente de 0,45%, 3% e 10%, para filhos de homens com CaP este risco aumentava para 5%, 15% e 30%, respectivamente.

1.2.4.3 Hábitos alimentares e obesidade

O estilo de vida, principalmente dieta rica em carne, gordura e produtos lácteos, que podem levar à obesidade, tem sido reportado como um importante fator na evolução desse câncer. Isso porque a obesidade está associada com alterações nos níveis de inúmeros hormônios incluindo fator de crescimento (IGF-1), estrógeno, testosterona, leptina, adiponecitina e insulina, além de aumentar a produção de mediadores inflamatórios, eventos importantes para a progressão do CaP (MASSENGILL et al., 2003; NELSON et al., 2003; WEISS et al., 2007).

Em homens obesos o diagnóstico de CaP é dificultado por alguns fatores. Primeiro, o nível de PSA, que tem sua produção regulada pela testosterona, é baixo e dessa maneira compromete a indicação da necessidade de realizar biópsia e assim diagnosticar o CaP. Segundo, Freedland e colaboradores (2006), o tamanho da próstata de homens obesos é maior, o que dificulta a localização do tumor através de biópsia. A dificuldade para detectar o CaP em homens obesos pode levar ao diagnóstico tardio e nesse momento a doença já poderia encontrar-se em estágio avançado. Esse fenômeno foi chamado por Parekh et al. (2010) de “detecção enviesada”. Considerando esses fatores, pode-se evidenciar um aparente paradoxo: espera-se menor incidência de CaP em homens obesos, devido à dificuldade de detecção mas, por outro lado, esse grupo apresenta aumento do risco de progressão e também maior risco de mortalidade (PAREKH et al., 2010).

1.2.4.4 Raça

A incidência e a mortalidade pelo CaP variam substancialmente entre áreas geográficas e grupos raciais, e os afroamericanos parecem ser desproporcionalmente mais afetados (CRAWFORD, 2009). As taxas dessa doença variam cerca de 25 vezes em todo mundo sendo as taxas mais baixas encontradas geralmente em povos asiáticos variando de 1,4 a 50,2 casos a cada 100.000 homens por ano. As maiores taxas ocorrem em norte-americanos: para homens brancos as taxas variam entre 78 e 135 casos a cada 100.000 homens por ano e em homens afrodescendentes essas taxas aumentam relativamente, variando entre 139,1 e 216 casos a cada 100.000 homens por ano (CURADO et al., 2007). Os estudos de Brawley (1998) e Littrup (1997) mostraram que afroamericanos desenvolvem a doença 1,5 vez mais frequentemente que os brancos da mesma idade.

Além da maior incidência de CaP em homens com ancestralidade africana foi observado que a doença é mais agressiva, representada pela taxa de mortalidade duas vezes maior do que a observada em outros grupos raciais (HOWLADER, 2012). Os valores prognósticos do PSA, do grau de Gleason e do estágio da doença, por exemplo, são maiores em afroamericanos do que em homens brancos (MOUL et al., 1995; FOWLER et al., 1999; FREEDLAND et al., 2000). Fatores como status socioeconômico, predisposição genética e obesidade estão entre as justificativas para essa heterogeneidade.

1.3 Fatores associados às elevadas taxas de CaP em homens negros

1.3.1 Nível socioeconômico

Abbott e colaboradores (1999) observaram que os homens negros têm menor conhecimento sobre o CaP e subestimam o risco da doença em comparação com homens caucasianos. Esse baixo nível de esclarecimento sobre CaP entre os homens negros justifica-se pelo baixo nível de escolaridade e nível socioeconômico (MAGNUS, 2004).

Em 2012, Pedersen e colaboradores revisaram 33 estudos realizados, a maioria nos EUA, e identificaram fatores individuais, culturais e sociais que podem ter impacto sobre a prevenção do CaP em homens negros e a decisão de serem testados para o CaP. Foram relacionados diversas situações: mal-entendido a respeito dos métodos de diagnóstico e tratamento foram generalizadas; os testes para diagnóstico do CaP e tratamento foram vistos como uma ameaça à

masculinidade; desconfiança no sistema de cuidado da saúde, o acesso limitado a cuidados da saúde e a falta de confiança em relação aos profissionais de saúde também foram destaque.

O desconhecimento sobre o CaP diminui a probabilidade de participação em triagens clínicas e o reconhecimento de sintomas que levem à procura por diagnóstico e tratamento tardios justificariam as altas taxas epidemiológicas da doença em indivíduos afroamericanos (O'DELL et al., 1999).

No Brasil, cerca de 36% dos negros fazem parte da classe socioeconômica baixa, contra 19% dos brancos, enquanto que a maioria dos brancos (29%) compõem a classe socioeconômica alta (IBGE, 2011). Esta heterogeneidade também se reflete no Sistema de Saúde Brasileiro organizado entre serviço público (Sistema Único de Saúde - SUS) e privados (planos de saúde e consultas particulares).

A gratuidade e a renda insuficiente fazem com que a clientela do SUS seja amplamente formada pelas faixas de renda familiar per capita que compõem os menores *decis*, ou seja, os mais pobres. Quando considerado o grupo populacional de menor renda familiar per capita (primeiro *decil* = até R\$22,00), em 1998, a clientela do SUS aumentou para 79,64%, enquanto diminui para 7,84% no último *decil* (acima de R\$1.240,00) (RAMOS, 2001). Em contra partida, os planos privados de assistência cobrem apenas uma parcela específica da população brasileira: pessoas de maior renda familiar, de cor branca, com maior nível de escolaridade, inseridas em determinados ramos de atividade do mercado de trabalho, moradores das capitais/regiões metropolitanas (PINTO; SORANZ, 2004).

1.3.2 Genes de suscetibilidade

Alguns genes já foram descritos como fortes candidatos à suscetibilidade ao CaP em homens negros, principalmente aqueles envolvidos em rotas metabólicas importantes para o desenvolvimento do tumor.

1.3.2.1 CYP3A4 e CYP17

O citocromo P450 (P450 ou CYP) é uma família de enzimas pertencente ao grupo das hemes-proteína que estão primariamente ancorados na bicamada lipídica do retículo

endoplasmático liso dos hepatócitos. As moléculas sobre as quais essas enzimas atuam podem ser de origem endógena como ácidos graxos, colesterol e hormônios esteróides, bem como compostos exógenos como drogas, pesticidas, aditivos de alimentos e outros compostos químicos (DEVLIN, 2002).

O CYP apresenta várias isoformas, que são formas múltiplas de uma mesma enzima que catalisam o mesmo tipo de reação, neste caso de oxidação, apresentando afinidade por substratos diferentes. Atualmente, mais de 60 isoformas do CYP estão identificadas em humanos, as quais são classificadas de acordo com as convenções da biologia molecular e identificadas por um número arábico indicando a família (membros de uma mesma família são os que apresentam mais de 40% de aminoácidos idênticos); seguido de uma letra em caixa alta que indica a subfamília (55% de aminoácido idênticos) e outro número representando o gene na subfamília (NELSON et al., 1993).

Dois importantes CYPs estão envolvidos no metabolismo da testosterona, o *CYP3A4* e o *CYP17*, e a atividade destes genes pode ser afetada por polimorfismos genéticos que ocorrem com maior frequência em alguns grupos populacionais, como em afroamericanos, e ajudam a entender porque esta população é mais propensa à desenvolver algumas doenças, como por exemplo, o CaP.

O gene *CYP3A4*, localizado no cromossomo 7q21.3-q22.1, apresenta 27.592 pares de bases de comprimento e possui 13 exons (LAMBA et al. 2002). A enzima codificada pelo *CYP3A4* tem papel importante na oxidação de testosterona (2β , 6β -, ou- 15β hidroxitesterona) e estrogênio (4α - e 16α -hidroxilação) (Figura 4). A substituição de adenina para guanina na posição 392 da região reguladora deste gene pode levar a redução potencial de oxidação de testosterona, permitindo maior biodisponibilidade do hormônio para ser metabolizado intracelularmente à sua forma biologicamente ativa, a dihidroxitesterona, o principal hormônio androgênico envolvido na regulação do crescimento da próstata (KESHAVA et al., 2004).

O gene *CYP17* está localizado no cromossomo 10q24.3 e é constituído de 8 éxons. Este gene codifica a enzima citocromo p450c17 (17α -hidroxilase/17,20-Liase), que catalisa duas reações 17-hidroxilase e 17,20-liase, essenciais para a biossíntese de glicocorticóides e hormônios sexuais (Figura 4). O primeiro passo na via de biossíntese envolve a conversão de colesterol em pregnenolona pela *CYP11A1*. Subsequentemente, pregnenolona é convertida em 17-hidroxipregnenolona e, em seguida, a dehidroepiandrosterona, um precursor da testosterona,

pelo P450c17 α enzima. Assim, as enzimas codificada pelo gene *CYP17* constituem um passo limitante da velocidade na biossíntese androgênica. A mutação *CYP17*-34T>C cria um segundo sítio promotor e aumenta a transcrição do gene, elevando a biodisponibilidade da testosterona e assim, a proliferação celular prostática (FAN et al., 1992).

Uma variante genética na região reguladora 5' do o gene *CYP3A4*, denominada *CYP3A4*-392A>G (rs2740574) foi associada a estágios mais agressivos do CaP principalmente na população afroamericana (REBBECK et al., 1988; PARIS et al., 1999; ZEIGLER-JOHNSON et al., 2002; BANGSI, et al. 2006; ZHOU et al., 2012; TAIOLI, et al., 2013). Uma mutação (rs743572) na região promotora 5' do gene *CYP17* conhecida como *CYP17*-34T>C, também foi identificada por aumentar o risco para o CaP em afroamericanos com avanço clínico rápido da doença (GSUR et al., 2000; KITTLES et al., 2002; TAIOLI, et al., 2013; BEUTEN et al., 2008; SARMA et al., 2008).

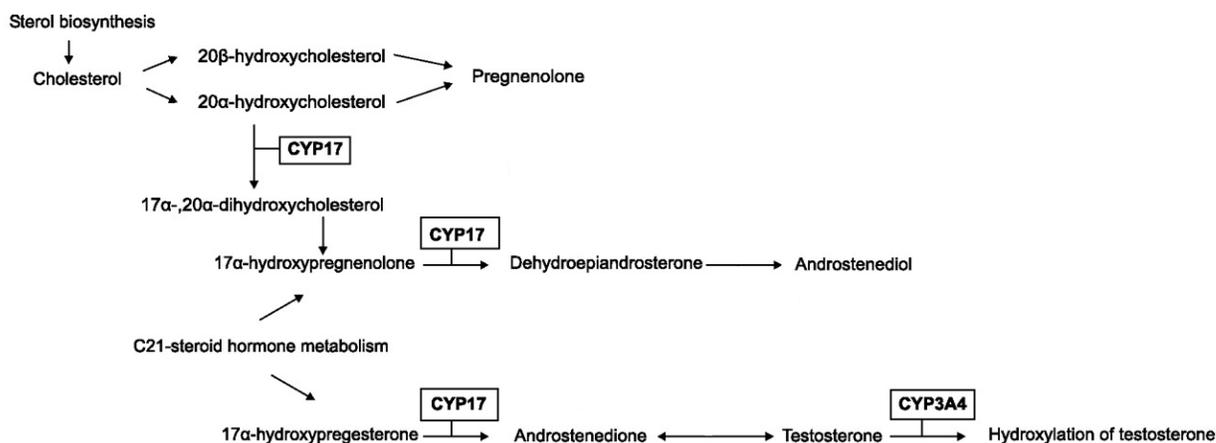


Figura 4 - Metabolismo da testosterona com destaque para os genes *CYP3A4* E *CYP17*.
Fonte: Beuten et al. (2009)

1.3.2.2 Genes GSTs

As glutationas S-transferases (GSTs) formam uma família multigênica com quatro diferentes classes de isoenzimas da fase II: α , μ , π e θ ; incluindo os locos GSTM1(μ), GSTT1(θ) e GSTP1(π). As GSTs constituem um importante sistema enzimático do mecanismo celular de detoxificação e estão envolvidas no metabolismo de xenobióticos que incluem carcinógenos

ambientais, espécies reativas de oxigênio e agentes quimioterapêuticos (GATTÁS et al., 2004). A reação de conjugação do grupo sulfidrílico da glutatona com grupos eletrofílicos de compostos xenobióticos, catalisada pelas GSTs, torna os produtos da reação menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando sua excreção (NELSON, 2000).

Segundo Hatagima (2002), todos os genes da classe *mu* foram mapeados no braço curto do cromossomo 1, e especificamente o gene *GSTM1* está localizado em 1p13. O gene *GSTT1* tem 8,1 kb, foi mapeado no cromossomo 22q11.2 e apresenta dois diferentes alelos funcionais (GATTÁS et al., 2004). De maneira semelhante ao gene *GSTM1*, existe uma deleção do *GSTT1* aparentemente causada por uma recombinação homóloga envolvendo duas sequências altamente repetitivas que flanqueiam o gene (HA3 e HA5), resultando na perda de 54 kb que contém o gene inteiro (PARL, 2005). Indivíduos com pelo menos um alelo funcional para *GSTM1* e *GSTT1* estão agrupados nos tipos de conjugação positiva e são chamados GSTM1-positivos e GSTT1-positivos respectivamente. Por outro lado, os indivíduos que possuem deleção dos genes e, conseqüentemente a ausência ou a forma inativa das enzimas, são denominados de portadores do genótipo “GSTM1-nulo” (GSTM1*0) e “GSTT1-nulo” (GSTT1*0).

A falta ou redução da atividade dessas enzimas, observada em indivíduos com o genótipo nulo ou com variantes polimórficas, pode causar o acúmulo de componentes metabólicos. Estes componentes podem ligar-se covalentemente ao DNA formando adutos e provocar mutações em genes críticos como oncogenes e/ou supressores tumorais aumentando a probabilidade do desenvolvimento de neoplasias. Segundo Autrup (2000), indivíduos classificados como GSTM1-nulo devem teoricamente ter alto nível de adutos comparados com indivíduos que expressam o gene.

As frequências de homozigotos para as deleções dos genes *GSTM1* e *GSTT1* variam significativamente entre grupos étnicos. Ambas as cópias do gene *GSTM1* estão ausentes em aproximadamente 50% dos homens brancos e asiáticos, e em cerca de 30% dos afroamericanos. Em contraste, ambas as cópias do gene *GSTT1* são eliminados em aproximadamente 50% dos homens asiáticos e em cerca de 20% dos homens brancos e afroamericanos (ARRUDA et al., 1998).

A relação entre GSTs e o CaP ainda não está bem estabelecida, mas uma recente metanálise sugeriu que pessoas com genótipo GSTM1-nulo, com genótipo nulo duplo para os

genes *GSTM1* e *GSTT1*, ou com genótipo *GSTT1*-nulo e o polimorfismo A131G no gene *GSTP1* estão associados a riscos elevados de CaP (GONG et al. 2012).

A relação entre os GSTs e a suscetibilidade ao CaP em afroamericanos também tem sido pouco investigada, mas um estudo realizado com afrodescendentes caribenhos sugeriu associação entre *GSTT1* funcional e maior suscetibilidade ao CaP (PEDERSEN et al., 2012). Em estudo de metanálise, Taioli e colaboradores (2011), encontraram associação positiva entre *GSTM1*-nulo e CaP em afroamericanos fumantes (OR: 1,28, IC 95%: 1,01-1,56), porém, em caribenhos e africanos, *GSTM1*-nulo, bem como *GSTT1*-nulo, apresentaram efeito protetor.

1.3.3 Obesidade

O estudo de Spangler et al. (2007) observou que afroamericanos com CaP são mais obesos e mais propensos à estágios avançados da doença que os brancos com CaP, e sugeriram que a obesidade pode ser um importante fator que ajudaria a tornar esse grupo suscetível ao CaP, influenciando tanto na incidência como também na resposta ao tratamento da doença. Porém, Su e colaboradores (2011) estudaram 1.049 afroamericanos e 1.083 americanos caucasianos e encontraram associação positiva entre obesidade e CaP agressivo independente da ancestralidade.

O Índice de Massa Corporal (IMC) é uma medida da gordura corporal total, calculada partir do peso da pessoa em quilogramas e dividindo este pela altura ao quadrado em metros (CALLE et al., 2003). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, os homens com IMC de 30 ou mais são considerados obesos.

A síndrome metabólica refere-se a um conjunto de condições, as quais servem como fatores de risco para as doenças cardiovasculares e apresenta a resistência à insulina como a característica definidora (REAVEN, 1988). O aumento na prevalência da síndrome metabólica nos EUA ocorre em paralelo com as taxas de prevalência de obesidade. As estimativas de prevalência da síndrome metabólica indicam que homens afroamericanos apresentam maiores taxas (16,4%) em comparação com os homens e mulheres de outros grupos raciais (FORD et al., 2004). Beebe-Dimmer e colaboradores (2010) suspeitam que, se houverem diferenças raciais na biologia subjacente à síndrome, isso poderia ajudar a explicar a variabilidade no risco de CaP. No estudo realizado por eles, os homens afroamericanos participantes do estudo apresentaram taxas

significativamente maiores de hipertensão e diabetes em comparação com indivíduos caucasiano, características associadas com consequências mais graves da doença cardiovascular entre afroamericanos. Desse modo, os autores suspeitam que a mesma relação pode ser extrapolada para o CaP.

1.4 Ancestralidade

De acordo com o IBGE (2011) a Bahia é o estado que apresenta a maior porcentagem de população afrodescendente (negra e parda) por autodenominação (76,6%), em Salvador, esse percentual é de 81,9%, porém esses dados pode não refletir o grau de contribuição genética de grupos ancestrais.

Cavalli-Sforza e Bodmer (1971) mostraram que a frequência de algumas variantes genéticas é diferente entre populações e/ou regiões geográficas distintas, portanto essas variantes podem ser utilizadas em estimativas de composição ancestral de populações híbridas. A precisão na avaliação da contribuição ancestral numa população é diretamente proporcional à magnitude da diferença das frequências dos marcadores entre as populações ancestrais, variantes com estas características são chamadas de marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) (PARRA, E. et al., 1998). A análise destes marcadores é importante para descrição da diversidade genética populacional, reconstrução histórica dos povoamentos (CALLEGARI-JACQUES; SALZANO, 1999; YANAGIHARA et al., 1995) e estimativa de contribuição das populações ancestrais na formação de populações miscigenadas (SHRIVER et al., 2003; PARRA, E., et al., 1998; PARRA, E., et al., 2001; PRITCHARD; DONNELLY, 2001; TSAI et al., 2006) estudos de mapeamento genético e associação com doenças (SHRIVER, 1997).

Poucos estudos foram realizados para inferir a diversidade ancestral a partir de dados genéticos na população baiana. Alguns trabalhos foram realizados, por exemplo, em remanescentes de quilombos (ABÉ-SANDES et al., 2004; BARBOSA et al., 2006). Em Salvador, Machado (2008) estudou 1286 indivíduos utilizando de 10 AIMs e encontrou que a contribuição africana, europeia e ameríndia foi 49,2%, 36,3% e 14,5%, respectivamente, porcentagem semelhante ao que foi observada no estudo de Felix et. al. (2010) em uma amostra de doadores de sangue na população da Bahia.

Os mesmos marcadores foram analisados em uma amostra de 517 indivíduos da Bahia composta por brancos (17,2%), mulatos (77,5%) e negros (4,3%), classificados fenotipicamente. Nesse trabalho, foi observado que a contribuição africana foi 30% nos indivíduos classificados como brancos; 47% nos mulatos em geral, sendo 33% nos mulatos claros, 50% nos mulatos médios e 62% nos mulatos escuros; e 62% nos negros (BOMFIM, 2008).

Paschoalin e colaboradores (2003) analisaram a ancestralidade de pacientes com CaP utilizando VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) também conhecidos como minissatélites, que são marcadores genéticos altamente polimórficos gerados por múltiplas cópias de um pequeno segmento de DNA (geralmente composto por mais de 10 bases). Apesar das limitações de trabalhar com VNTRs, como a alta taxa polimórfica, o estudo conseguiu observar, a partir da análise de 473 voluntários na cidade de Ipirá-BA, que havia maior prevalência de CaP entre os indivíduos com maior ancestralidade africana.

1.4.1 Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs)

1.4.1.1 Inserção/Deleção (*SERPINC1* - *AT3*)

A antitrombina III (*AT3*) é um membro da família dos inibidores da serina proteinase. Ela inativa, irreversivelmente, várias proteinases de coagulação, tais como os fatores IXa, Xa, XIIa e trombina. O gene *SERPINC1* que codifica a *AT3* localiza-se no cromossomo 1 (1q25.1), possui 19kb e sete éxons. Um dos seus polimorfismos do tipo inserção/deleção (rs3138521) apresenta comprimento de 76bp na região 5' do éxon 1 (LIU et al., 1995). A presença desta inserção (utilizando os *primers* descritos por PARRA, E., et al., 1998) gera um fragmento de 572bp e caracteriza o alelo *AT3-I/D*1*, mais frequente na população africana.

1.4.1.2 Inserções *Alu* (*SB19.3*, *APO* e *PV92*)

As inserções *Alu* são repetições intercalantes curtas (SINE, do inglês *short interspersed repetitive elements*) diméricas de aproximadamente 300pb, e representam 10% do genoma humano. Cada elemento *Alu* é um retrotransposon homólogo ao gene 7SL RNA e que se movimenta através do genoma de primatas por um processo definido como retrotransposição.

Os polimorfismos de inserções *Alu* são marcadores ideais para estudos evolucionários humanos porque a retrotransposição produz eventos de inserção irreversíveis e amplamente distribuídos, cada qual com o estado ancestral conhecido (WATKINS et al., 2001). Os elementos *Alu* podem ser classificados em famílias e subfamílias com base na identidade nucleotídica entre eles.

A inserção *Alu Sb19.3* (rs3138523) pertence a subfamília Yb8 e está localizada no cromossomo 19p12 (ARCOT et al., 1998). A presença da inserção *Alu* gera um fragmento de aproximadamente 457pb que caracteriza o alelo Sb19.3*1. Este alelo apresenta frequência elevada em europeus e nativo-americanos.

O AIM *Alu APO* (rs3138524) está próximo ao complexo de genes da apolipoproteína AI-CIII-AIV no braço longo do cromossomo 11 (KARATHANASIS et al., 1986). A presença da inserção *Alu* gera um fragmento de aproximadamente 409pb e caracteriza o alelo APO*1, bastante frequente em nativo-americanos e europeus.

O *Alu PV-92* (rs3138522) localiza-se no cromossomo 16 (BATZER et al., 1994) e a caracterização do alelo PV92*1 dá-se pela presença da inserção *Alu* que gera um fragmento de aproximadamente 400pb, mais prevalente em populações asiáticas.

1.4.1.3 Marcadores SNP (*FY-null*, *LPL*, *CKMM* e *GC*)

Os antígenos Duffy, codificadas pelo gene *DARC* (DuffyAntigen Receptor for Chemokines), são proteínas multiméricas da membrana de eritrócitos compostas por diferentes subunidades,. Uma glicoproteína de 35 a 45 kD nomeada GPD é a subunidade principal da proteína complexa e tem as determinantes antigênicas definidas por anti-Fy (a), anti-Fy (b), e os anticorpos anti-Fy6 (HADLEY et al., 1984). O fenótipo Fy (a-b-) fornece a proteção completa para infecção pelo *Plasmodium vivax*.

O sistema de Duffy foi o primeiro grupo sanguíneo a ter o locus genético atribuído ao cromossomo autossômico específico, o cromossomo 1 (DONAHUE et al., 1968). A variante relacionada com o fenótipo Fy (a-b-) teve sua base molecular demonstrada por Tournamille e colaboradores (1995). Esta é uma transição de uma adenina (A) para uma guanina (G) na posição -46 da região promotora deste gene (rs2814778). A população europeia praticamente possui

apenas o alelo A, convencionalmente chamado de alelo *FY-null*1*, juntamente com os nativos americanos, enquanto que os africanos apresentam apenas o alelo G.

A lipoproteína lipase (LPL) está envolvida no metabolismo de triglicérides através do catabolismo de partículas como quilomícrons e VLDL (do inglês, *very low density lipoproteins*) (STEPANOV; LEMZA, 1993). Uma de suas variantes (rs285) encontra-se no íntron 6 do gene da lipoproteína lipase (LPL), onde o alelo T, também conhecido como alelo LPL*1, encontra-se mais frequente em populações africanas e o alelo C em populações asiáticas, sendo que as populações europeias apresentam frequências semelhantes desses alelos.

A creatina cinase existe como um dímero: a enzima do músculo (MM) consiste em 2 subunidades idênticas de M, e a do cérebro (BB) consiste em 2 subunidades idênticas de B (DAWSON et al., 1968). Outros tecidos mostram uma terceira, a enzima híbrida MB. As isoenzimas diméricas da creatina cinase estão envolvidas na manutenção dos níveis intracelulares de ATP, particularmente nos tecidos que têm demandas de energia elevada. A isoenzima MM da creatina cinase é encontrada exclusivamente em músculo estriado; a isoenzima BB é encontrada no músculo liso, cérebro e nervos; MB é encontrado no coração humano.

O gene da creatina cinase está localizado no cromossomo 19q13.32 e o polimorfismo estudado neste gene consiste em uma transição C>T (rs4884), no éxon 8. Sendo o alelo C prevalente nas populações europeias e africanas e o T, ou alelo CKMM*1, na asiática.

O gene CG está localizado no cromossomo 4 (4q12-q13) e codifica uma proteína que se liga a vitamina D. Neste foram identificadas duas mutações no éxon 11, uma na posição 34, uma transição de G para T, que leva a troca de um ácido aspártico para um ácido glutâmico na cadeia polipeptídica, no códon 416. E outra no nucleotídeo 45, a substituição de uma C por uma A com consequente alteração de um aminoácido treonina para uma lisina no códon 420 (BRAUN et al., 1992). Cada isoforma corresponde a um alelo: *1F, T para o nucleotídeo 34 e C para o 45 (rs7041), mais frequente em africanos, *1S G para o 34 e C para 45 (rs4588), mais frequente em europeus, e o 2 (com uma T na posição 34 e A na 45).

Estudos epidemiológicos apontam o CaP como um dos carcinomas mais frequentes na população mundial e as populações com ascendência africana têm apresentado maiores taxas de incidência e mortalidade. Porém, a maioria dos trabalhos que mostra esta associação foram realizados em população afroamericana e poucos relacionaram essas variáveis na população brasileira. Considerando-se que a construção histórica do Brasil foi marcada por uma grande

diversidade genética racial, estudos que busquem compreender a relação entre populações susceptíveis e doenças como o câncer, constituem uma importante ferramenta para as estratégias que envolvem a saúde pública. Considerando ainda que a população da cidade de Salvador apresenta grande contingente de afrodescendentes, verificar se nesta população também ocorre maiores taxas de incidência e mortalidade por CaP é fundamental para entender a epidemiologia da doença.

Entretanto, devido ao alto grau de miscigenação da nossa população, a caracterização da ancestralidade levando em consideração apenas as características fenotípicas, apresenta alto grau de complexidade. Assim, o uso de marcadores genéticos ajudaria a descrever melhor esta população para que possa ser avaliada com maior acurácia a relação de suscetibilidade e pior prognóstico entre os indivíduos com maior ancestralidade africana e o CaP. Além disso, sabe-se que o menor nível socioeconômico está associado positivamente com a ancestralidade africana e portanto, deve-se considerar esta variável na análise populacional, para que não ocorram associações espúrias.

Para entender a associação entre uma doença e uma determinada população, podem ser estudadas alterações em alguns genes relacionados à fisiologia da doença e que podem ter frequência aumentada em determinadas populações, justificando a maior predisposição destas. Desse modo, além de marcadores de ancestralidade, foram selecionadas neste estudo mutações em genes relacionados com o desenvolvimento do CaP e que mostraram associação com populações afrodescendentes já demonstrada em outros estudos.

Além da suscetibilidade genética, foi observado que afroamericanos apresentam maior prevalência de síndrome metabólica e também de obesidade, o que parece contribuir para a maior predisposição desse grupo ao CaP, porém os estudos ainda não são conclusivos. Considerando que a obesidade tem aumentado em países subdesenvolvidos, o esclarecimento da relação entre obesidade e CaP pode ser um fator de relevante importância para a prevenção deste carcinoma.

Considerando estes dados, o presente estudo tem como hipótese que os indivíduos afrodescendentes, na Bahia, são mais susceptíveis a desenvolver o CaP e de modo mais agressivo, por serem mais obesos e por apresentarem mutações em genes que estão envolvidos em rotas metabólicas importantes para a proliferação celular.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral:

Verificar a associação entre maior contribuição ancestral africana e variantes em genes de suscetibilidade ao CaP em pacientes do estado da Bahia.

2.2 Específicos:

- Estimar a contribuição das populações ancestrais africana, europeia e ameríndia em uma amostra de indivíduos com CaP e sem CaP no estado da Bahia utilizando marcadores informativos de ancestralidade (AIMs);
- Comparar de forma descritiva, os métodos de avaliação da ancestralidade (autodenominação de raça/cor e classificação fenotípica) com a classificação genotípica;
- Verificar qual é a maior contribuição ancestral presente nos indivíduos provenientes dos serviços de saúde público e privado
- Verificar associação entre maior ancestralidade africana e obesidade;
- Verificar a associação entre os polimorfismos *CYP3A4* -392A>G; *CYP17* -34T>C e *GSTM1*-nulo e *GSTT1*-nulo com: o CaP, grau de agressividade do tumor e maior ancestralidade africana.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção da amostra

Foram incluídos 189 pacientes com diagnóstico histopatológico de CaP, independente do estágio da doença, coletados no período de janeiro de 2011 a junho de 2012, na cidade de Salvador, Bahia. Destes, 82 foram oriundos de clínicas particulares (Núcleo de Oncologia da Bahia e Centro de Hematologia e Oncologia da Bahia) e 107 do serviço público de saúde (Centro Estadual de Oncologia e Hospital Santo Antônio).

A amostra sem CaP foi composta por 112 indivíduos residentes na Bahia, com idade superior a 18 anos coletados no período de julho à dezembro de 2012, em clínicas e centros de saúde que atendiam exclusivamente pelo serviço do SUS (Laboratório de Imunologia da Universidade Federal da Bahia e Centro de Referência Estadual de Atenção à Saúde do Idoso). Os indivíduos sem CaP foram selecionados com base na estratificação da idade dos indivíduos com CaP. Para inclusão na pesquisa, eles precisavam ter realizado o exame de PSA nos últimos seis meses e o resultado deveria ser menor que 4,0ng/mL.

Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) e responderam ao questionário (APÊNDICE B).

3.2 Dados demográficos, clínicos e de ancestralidade

O questionário foi utilizado para coleta de dados sócio demográficos, informações sobre a ancestralidade, história familiar para o câncer e informações clínicas obtidas no prontuário do paciente (APÊNDICE A).

Para os indivíduos com CaP, o PSA informado foi aquele no período em que houve o diagnóstico da doença, para os controles, o valor do PSA foi aquele obtido no último exame realizado nos últimos seis meses. Foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC), a partir do peso na data do diagnóstico da doença, e realizado a classificação do indivíduo nas seguintes categorias: peso normal, abaixo de 25 kg/m²; peso em excesso, entre 25 e 30 kg/m² e obeso, acima de 30 kg/m² (WHO, 1995).

Para informações sobre ancestralidade foram realizadas perguntas sobre autodenominação de raça/cor e ancestralidade referida, além de ter sido realizada classificação fenotípica.

3.2.1 Autodenominação de raça/cor e ancestralidade referida

Foi solicitado aos participantes do estudo que se autodenominassem com relação a raça/cor conforme classificação do IBGE em: branco, negro, pardo, indígena ou outros. Eles ainda informaram sobre a raça/cor (IBGE) e local de nascimento dos pais e de seus avós além de serem questionados sobre a origem geográfica e histórico de miscigenação de seus ancestrais (ancestralidade referida).

3.2.2 Ancestralidade fenotípica (classificação racial fenotípica)

A ancestralidade fenotípica foi determinada com base nos critérios descritos por Krieger (1965) e Parra, F. e colaboradores (2003). As características morfológicas foram avaliadas da seguinte forma: cor da pele (branca, marrom ou preta); textura de cabelo (liso, ondulado ou crespo); formato do nariz (fino, achatado ou médio); formato dos lábios (finos, médios ou grossos). De acordo com esses critérios, os indivíduos de pele branca, cabelo liso ou ondulado, nariz fino ou mediano, lábios finos ou medianos foram classificados como brancos. Os indivíduos de pele preta, cabelo crespo e lábios grossos foram classificados como negros. Os demais participantes foram classificados como mulatos.

3.2.3 Extração de DNA

O sangue periférico foi coletado por técnicos em tubo contendo EDTA e levados ao laboratório para procedimento de extração. Foram utilizados 700 μ de sangue total para a obtenção de DNA genômico, pela técnica de extração salina (LAHIRI; NURNBERGER, 1991).

3.3 Genotipagem dos AIMS

Foram analisados nove AIMs selecionados por apresentarem alto diferencial de frequência (>30%) entre as populações ancestrais. A genotipagem foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e visualização direta do produto amplificado (análise de fragmento), para as inserções *Alu* e o *indel* (*AT3*) e os SNP foram analisados por PCR- RFLP (PARRA, E., et al., 1998) ou PCR em tempo real utilizando o sistema *TaqMan® da Applied Biosystems* (Quadro 3). A sequência dos *primers* utilizados e as condições de amplificação da PCR e o tamanho dos fragmentos formados estão descritas no Quadro 4.

AIM	rs	População com maior frequência no alelo*1	Localização	Tipo de polimorfismo	Metodologia
<i>AT3</i>	3138521	Africana	1q25.1	Indel	PCR
<i>APOA1</i>	3138524	Europeu	19p12	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>PV92</i>	3138522	Europeu	11q23.3	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>Sb19.3</i>	3138523	Ameríndia	16q23.3	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>FY-NULL</i>	2814778	Europeu	1q23.2	SNP	PCR em tempo real
<i>CKMM</i>	4884	Africana	8p21.3	SNP	PCR em tempo real
<i>LPL</i>	285	Ameríndia	19q13.32	SNP	PCR em tempo real
<i>GC*IF</i>	7041	Africano	4q13.3	SNP	PCR-RFLP
<i>GC*IS</i>	4588	Europeu	4q13.3	SNP	PCR-RFLP

Quadro 4. AIMs, rs, localização citogenética, população ancestral com maior frequência do alelo*1, tipo do polimorfismo e metodologia utilizada para análise dos AIMs.

3.3.1 Genotipagem dos polimorfismos *indel* e inserções *Alu*

O polimorfismo *indel* e as inserções *Alu* (*AT3-ID*, *Sb19.3*, *APO* e *PV92*, respectivamente) foram genotipados por PCR convencional utilizando os *primers* (Quadro 5) e condições de PCR de 1 ciclo com 94°C por 6 minutos e T° de pareamento (Quadro 4) por 2 minutos; seguido por 35 ciclos com 72°C por 1 minuto, 94°C por 30 segundos, T° de pareamento por 1 minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos.

As reações de PCR tinham volume total de 25µl, composto por: 100 ng de DNA; 10 mM tris-HCl pH 8,5; 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂; 0,01% gelatina; 200 mM de cada dNTP; 0,25 mM de cada primer, e 1U de Taq DNA polimerase.

Os fragmentos gerados (Quadro 5) foram analisados em gel de agarose a 2% ou poliacrilamida 6%, corado com brometo de etídio e visualizado em luz ultravioleta ou nitrato de

prata, respectivamente. Para análise do tamanho dos fragmentos gerados foi utilizado o marcador de peso molecular N3236S da *New England Biolabs*® de 100pb (Figuras 4, 5, 6 e 7).

AIM	Primers	Temperatura de pareamento	Tamanho dos segmentos com inserção
<i>AT3</i>	F: 5'-CCACAGGTGTAACATTGTGT-3' R: 5'-GAGATAGTGTGATCTGAGGC-3'	54°C	572bp
<i>APOA1</i>	F: 5'-AAGTGCTGTAGGCCATTTAGATTAG-3' R: 5'-AGTCTTCGATGACAGCGTATACAGA-3'	66°C	409pb
<i>PV92</i>	F: 5'-AACTGGGAAAATTTGAAGAGAAAGT-3' R: 5'-TGAGTTCTCAACTCCTGTGTGTTAG-3'	56°C	400pb
<i>Sb19.3</i>	F: 5'-TCTAGCCCCAGATTTATGGTAACTG-3' R: 5'-AAGCACAATTGGTTATTTTCTGAC-3'	63°C	457pb

Quadro 5. Sequência dos *primers*, temperatura de pareamento e tamanho do segmento amplificado dos AIMs estudados.

3.3.2 Genotipagem dos polimorfismos no gene *GC*

Os polimorfismos no gene *GC* foram amplificados a partir de PCR convencional, nas seguintes condições: 1 ciclo com 94°C por 6 minutos e 62°C por 2 minutos; seguido por 35 ciclos com 72°C por 1 minuto, 94°C por 30 segundos, 62°C por 1 minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos.

As reações de PCR tinham volume total de 25µl, composto por: 100 ng de DNA; 10 mM tris-HCl pH 8,5; 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂; 0,01% gelatina; 200 mM de cada dNTP; 0,25 mM de cada primer, e 1U de Taq DNA polimerase. O produto da amplificação foi submetido à digestão enzimática com as enzimas *HaeIII* e *StyI* segundo recomendações do fabricante. Os fragmentos foram visualizados em gel de poliacrilamida 10% e corado com nitrato de prata.

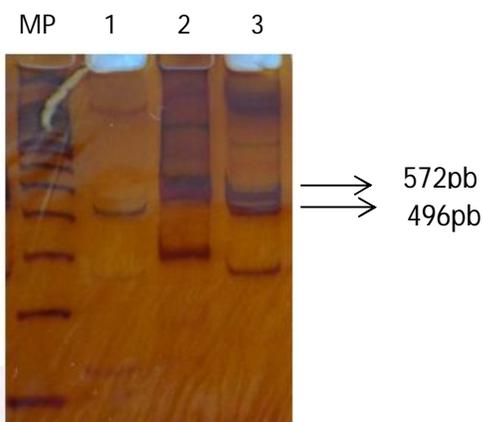


Figura 4. Padrão de bandas observado para o *locus AT3*. MP: Marcador de peso molecular de (100pb). Raias 1: indivíduo homocigoto para a ausência da inserção (496pb). Raias 2: indivíduo homocigoto para a presença da inserção (572pb). Raia 3: indivíduo heterocigoto (572pb e 496pb).

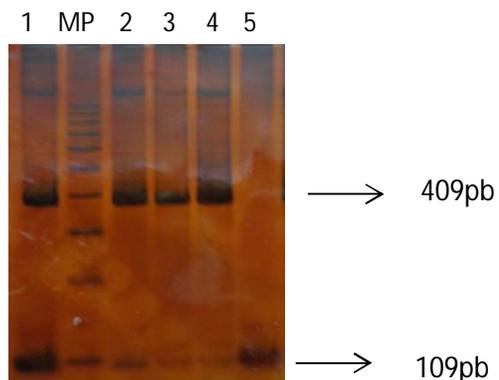


Figura 5. Padrão de bandas observado para o *locus APO*. MP: Marcador de peso molecular de (100pb). Raias 1: indivíduo heterocigoto (409pb e 109pb); Raias 2,3 e 4: indivíduos homocigotos para a presença da inserção (409pb) Raias 5: indivíduos homocigotos para a ausência da inserção (109pb).

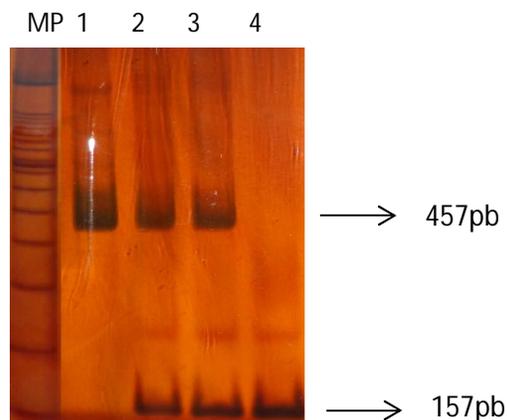


Figura 6. Padrão de bandas observado para o *locus SB19.3*. MP: Marcador de peso molecular (100pb). Raia 1: indivíduo homocigoto para a presença da inserção (457pb); Raia 1 e 2: indivíduos heterocigotos (457pb e 157pb); Raia 4: indivíduo homocigoto para a ausência da inserção (157pb).

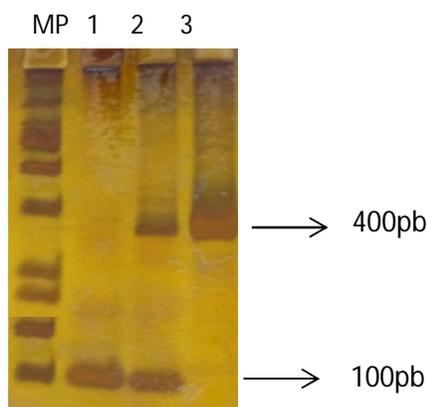


Figura 7. Padrão de bandas observado para o *locus PV92*. MP: Marcador de peso molecular (100pb). Raias 1: indivíduo homocigoto para a ausência da inserção (100pb); Raia 2: indivíduo heterocigoto (400pb e 100pb); Raia 3: indivíduo homocigoto para a presença da inserção (400pb).

3.3.3 Genotipagem do polimorfismo nos genes *CKMM*, *LPL* e *DARC*

Para os polimorfismos nos genes *CKMM*, *LPL* e *DARC* foi utilizado PCR em Tempo Real com uso do sistema TaqMan™ da *Applied Biosystems* do Brasil, segundo recomendações do fabricante. Os diferentes genótipos emitem fluorescência correspondente a cada alelo marcado, um com o fluoróforo VIC e outro com o fluoróforo FAM. Se ambos os alelos apresentarem fluorescência teremos um genótipo heterozigoto.

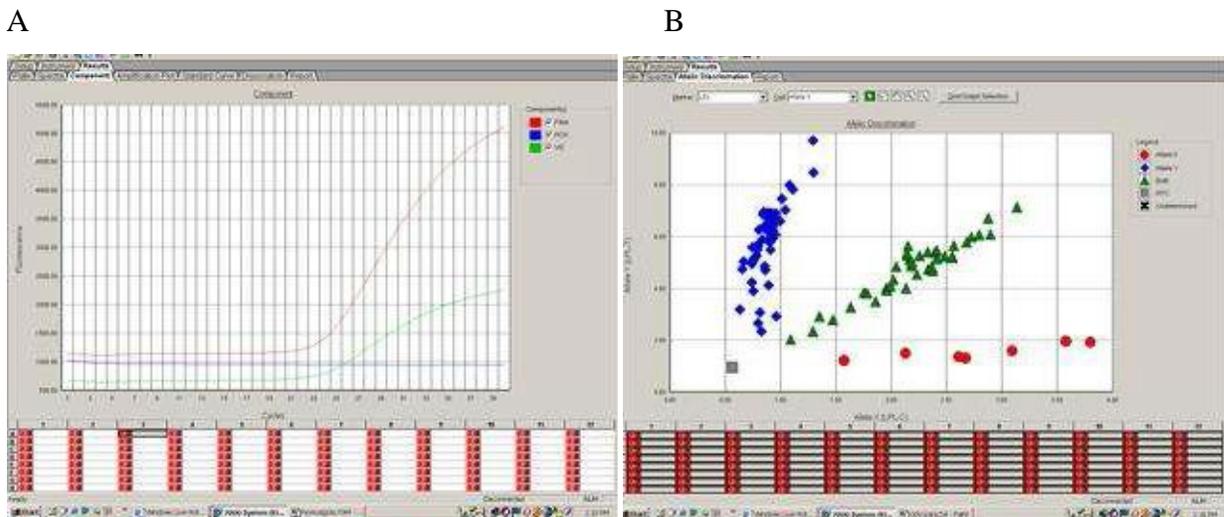


Figura 8. **A** – Quantidade de fluorescência capturada durante a amplificação (PCR em Tempo Real) de um genótipo heterozigoto pelas sonda (Verde: VIC, Vermelho: FAM) que correspondem aos alelos. **B** – Gráfico de discriminação alélica. Os círculos vermelhos representam indivíduos homozigotos para um dos alelos; os losangos azuis, são homozigotos para o outro alelo e os triângulos verdes são os heterozigotos.

3.4 Gene de susceptibilidade ao tumor

3.4.1 *CYP3A4* e *CYP17*

Os polimorfismos nos genes *CYP3A4* e *CYP17* foram amplificados por PCR convencional, nas seguintes condições:

- *CYP3A4*: 1 ciclo com 98°C por 5 minutos; seguido por 30 ciclos com 95°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto e meio, 72°C por 2 minutos e um ciclo final de 72°C por 10 minutos. O fragmento amplificado foi de 385pb.

- *CYP17*: 1 ciclo com 94°C por 5 minutos; seguido por 30 ciclos com 94°C por 1 minuto, 57°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos. O fragmento amplificado foi de 414pb.

As reações de PCR tinham volume total de 25µl, composto por: 100 ng de DNA; 10 mM tris-HCl pH 8,5; 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂; 0,01% gelatina; 200 mM de cada dNTP; 0,25 mM de cada primer, e 1U de Taq DNA polimerase.

O produto da amplificação foi submetido à digestão enzimática com as enzimas *MboII* para o gene *CYP3A4* e *MspAI* para o gene *CYP17*, conforme recomendações do fabricante. Os fragmentos do *CYP3A4* foram visualizados em gel de poliacrilamida 10% [40% (29:1)] e corado com nitrato de prata. Já os fragmentos do *CYP17* foram visualizados em gel agarose 2% corado com brometo de etídio (Figuras 8 e 9).

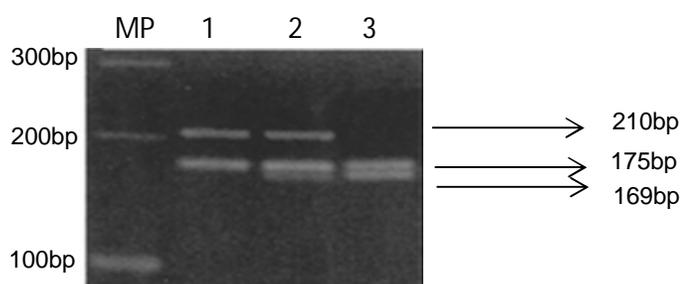


Figura 9. Padrão de bandas observado para o locus *CYP3A4*. MP: Marcador de peso molecular (100pb). Raia 1: indivíduo homozigoto para a mutação (210 e 175pb); Raia 2: indivíduo heterozigoto (210, 175 e 169pb) e Raia 3: indivíduo homozigoto para o genótipo selvagem (175, 169pb).

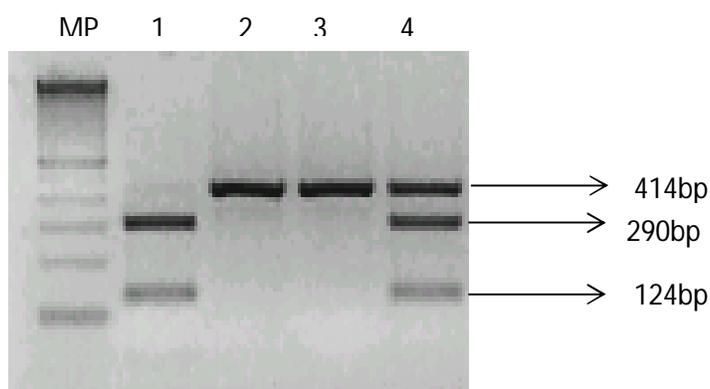


Figura 10. Padrões de banda para o locus *CYP17* MP: Marcador de peso molecular (100pb). Raia 1: indivíduo homozigoto para a mutação (290 e 124pb); Raias 2 e 3: indivíduos homozigotos para o genótipo selvagem (414pb); Raia 4: indivíduo heterozigoto (414pb; 290pb 3 124pb).

3.4.2 *GSTT1* e *GSTMI*

As deleções dos genes *GSTT1* e *GSTMI* foram analisados por PCR- *multiplex*. Nesta reação era possível a amplificação de um segmento de 215 pb para os indivíduos que possuíam o genótipo *GSTMI* positivo, um segmento de 480 pb nos indivíduos que possuíam o genótipo *GSTT1* positivo e um segmento de 228pb do éxon 1 da cadeia β do gene da hemoglobina (Hb), utilizado como controle interno da reação, excluindo a possibilidade de falsa interpretação dos resultados devido à ausência de amplificação. Os *primers* utilizados estão descrito no Quadro 6.

A PCR foi realizado nas seguintes condições: 1 ciclo com 95°C por 6 minutos; seguido por 35 ciclos com 94°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos.

As reações de PCR tinham volume total de 25 μ l, composto por: 100 ng de DNA; 10 mM tris-HCl pH 8,5; 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂; 0,01% gelatina; 200 mM de cada dNTP; 0,25 mM de cada *primer*, e 1U de Taq DNA polimerase. O produto da amplificação foi visualizados em gel de agarose 3% e corado com brometo de etídio.

Gene	Metodologia	Primer
<i>CYP3A4</i>	PCR/ RLFP (Enzima <i>Mbo</i> II)	F: 5'-GGAATGAGGACAGCCATAGAGACAAGGGGA- 3' R: 5'-CCTTTCAGCTCTGTGTTGCTCTTTGCTG-3'
<i>CYP17</i>	PCR/ RLFP (Enzima <i>Msp</i> A1I)	F: 5'-CATTCGCACTCTGGAGTC-3' R: 5'-AGGCTCTTGGGGTACTTG-3'
<i>GSTT1</i>	PCR-Multiplex	F: 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'; R: 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3';
<i>GSTMI</i>		F: 5'-CTGCCCTACTTGATTGATGGG-3' R: 5'-CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3'
<i>HB</i>		F: 5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3' R: 5'-CATGGTGCATCTGACTCCT-3'

Quadro 6 - Metodologia empregada para análise de cada gene de suscetibilidade e seus respectivos *primers* e as enzimas utilizadas

3.5 Análise Estatística

Estatística descritiva foi utilizada para análise dos dados demográficos. Para a determinação das frequências alélicas foi utilizado o programa GENEPOP 4.2 (RAYMOND;

ROUSSET, 1995; ROUSSET, 2008) e para avaliação da ancestralidade genética foi utilizado o programa *Structure 2.2* (PRITCHARD et al., 2001) e os genótipos das populações ancestrais (dados enviados pelo Dr. Mark D. Shriver). Para o cálculo de *Odds ratio*, intervalo de confiança e valor de p foi utilizado programa WinPep versão 11.26 (ABRAMSON, 2011).

3.6 Considerações Éticas

O projeto foi aprovado no comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Tecnologia e Ciências, Parecer nº 1.342-2009 e no comitê de ética em pesquisa do Hospital Santo Antônio/Obras Sociais Irmã Dulce, Parecer nº 096/2011 (Anexos 1 e 2).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os **resultados** e **discussão** estão no manuscrito e os resultados das análises realizadas e não mostradas no texto do artigo foram adicionadas como apêndice.

4.1 MANUSCRITO

Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de câncer de próstata do estado da Bahia

Oliveira, PC,^{1,2}; Machado, TMB^{1,2}; Bomfim, TF^{1,2}; Nascimento, I²; Meyer, R²; Abé-Sandes, K^{1,2,3}

1 – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (PPGBSMI – CPqGM-FIOCRUZ); 2 – Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (Labimuno-ICS-UFBA); 3 - Departamento de Ciências da Vida da Universidade do Estado da Bahia– UNEB

Resumo

O câncer de próstata (CaP) é um dos tipos de neoplasias mais frequentes nos homens em todo o mundo e também na população masculina brasileira. A incidência, mortalidade e agressividade do CaP são maiores em homens negros. De acordo com o IBGE, a Bahia é o estado que apresenta a maior porcentagem de população afrodescendente e os indivíduos que moram em Salvador apresentam maior ancestralidade africana que os nascidos no interior do estado. O presente estudo analisa a associação entre maior ancestralidade genética africana e genes de suscetibilidade ao CaP em pacientes do estado da Bahia oriundos de serviços de saúde particular e público. Participaram do estudo 189 homens com diagnóstico de CaP, e 112 homens sem CaP. Foram utilizados nove marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) para estimar a ancestralidade genética e variantes polimórficas em quatro genes de suscetibilidade: *CYP3A4*, *CYP17*, *GSTM1* e *GSTT1*. Entre os indivíduos com CaP houve maior contribuição europeia (47%) e entre os indivíduos sem CaP, maior contribuição africana (43%). Entre os genes de suscetibilidade observou-se que o genótipo GG, bem como a os genótipos GG+AG na variante *CYP3A4* -392A>G, estiveram relacionados ao aumento do risco de CaP tanto de modo global, bem como em indivíduos com maior ancestralidade africana, porém não esteve associado positivamente com o aumento da agressividade do tumor. A variante *CYP17* -34T>C não apresentou relação com aumento do risco para o CaP quando comparou-se indivíduos com e sem CaP, mas ao estratificar a população observou-se maior risco associado ao genótipo heterozigoto (TC) em indivíduos com maior contribuição africana, mas não houve relação entre a variante e o aumento da agressividade do tumor. Por fim, o genótipo *GSTM1*-0 esteve associado ao aumento do risco para o CaP de modo geral, mas não esteve relacionado com o aumento da agressividade do tumor.

Introdução

O Câncer de Próstata (CaP) é a quinta neoplasia mais frequentes no mundo, sendo a segunda mais frequente e a sexta responsável por mortes em homens (WHO, 2008). No Brasil, entre os homens, o CaP é também é a segunda neoplasia mais comum e a segunda em taxa de mortalidade. A estimativa é que ocorram mais de 60.000 novos casos em 2013, em todo Brasil (BRASIL, 2011).

A incidência e a mortalidade por esta doença variam substancialmente entre áreas geográficas e grupos raciais, e os afrodescendentes americanos parecem ser desproporcionalmente mais afetados (CRAWFORD, 2009). Os valores do PSA, do grau de Gleason e do estágio da doença, por exemplo, são maiores em afroamericanos que em homens brancos (MOUL et al., 1995; FOWLER et al., 1999; FREEDLAND et al., 2000).

Fatores como status socioeconômico, predisposição genética e obesidade são algumas hipóteses que tentam justificar estas diferenças raciais para a agressividade e predisposição ao CaP (PEDERSEN et al., 2012; ZHOU et al., 2012; TAIOLI, et al., 2013; SPANGLER et al., 2007).

Variantes em alguns genes, principalmente aqueles envolvidos em rotas metabólicas importantes para o desenvolvimento do tumor, já foram descritos como fortes candidatos à suscetibilidade ao CaP em homens negros.

O polimorfismo *CYP3A4* -392A>G (rs2740574) foi associada a estágios mais agressivos do CaP em afroamericanos, provavelmente por aumentar a bioatividade da testosterona (REBBECK et al., 1988; PARIS et al., 1999; ZEIGLER-JOHNSON et al., 2002; BANGSI, et al. 2006; ZHOU et al., 2012; TAIOLI, et al., 2013).

A mutação *CYP17* -34T>C(rs743572) também foi associada com risco aumentado para o CaP em afroamericanos e agressividade da doença. Este gene codifica uma enzima que constitui um passo limitante da velocidade na biossíntese androgênica (GSUR et al., 2000; KITTLES et al., 2002; TAIOLI et al., 2013; BEUTEN et al. 2009; SARMA et al. (2008).

As glutionas S-transferases (GSTs) são enzimas de fase II e estão envolvidas no metabolismo de numerosos agentes cancerígenos potenciais. As GSTs são expressas no tecido da próstata, assim, a falta de atividade pode levar ao acúmulo de compostos tóxicos locais (COUGHLIN; HALL, 2002). A deleção completa dos genes *GSTM1* e *GSTT1* reduz a capacidade

de eliminar cancerígenos eletrofílicos de forma eficiente. A relação entre os GSTs e a suscetibilidade ao CaP em afrodescendentes tem sido pouco investigada. Pedersen e colaboradores (2012) encontraram associação entre *GSTT1* funcional e maior suscetibilidade ao CaP em afrodescendentes caribenhos e Taioli e colaboradores (2011) encontraram associação positiva entre *GSTMI* deletado e CaP em afroamericanos.

Além da predisposição genética foi observado que a obesidade e o nível sócio econômico podem contribuir para a suscetibilidade de homens negros refletindo tanto na incidência como também na resposta ao tratamento da doença (SPANGLER et al., 2007; LY et al., 2010).

A população da Bahia com sua ampla mistura de europeus, africanos e índios e alto contingente de afrodescendentes 76,7% (IBGE, 2010), se torna alvo de grande interesse para a realização de estudos com objetivo de delinear o perfil epidemiológico de patologias de grande prevalência, principalmente aquelas que mostram associação com o grupo racial predominante neste estado, como a neoplasia maligna da próstata.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi verificar a associação entre maior ancestralidade genética africana e variantes em genes de suscetibilidade ao CaP em pacientes do estado da Bahia, considerando a estratificação por nível socioeconômica da população e a obesidade.

Materiais e métodos

Participaram da pesquisa 301 indivíduos coletados entre janeiro de 2011 e dezembro de 2012 que residiam na cidade de Salvador, Bahia e que aceitaram participar da pesquisa assinando o Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Entre eles, 189 indivíduos apresentavam diagnóstico histopatológico de CaP, dos quais 82 foram atendidos em clínicas particulares (serviço de saúde privado) e 107, em serviço de saúde público (Sistema Único de Saúde). Além disso, foram incluídos 112 indivíduos que não apresentaram diagnóstico de nenhum tipo de câncer até o momento da coleta e com dosagem de $PSA < 4\text{ng/mL}$.

Os indivíduos responderam ao questionário utilizado para coleta de dados sócio demográficos, informações sobre a ancestralidade, dados pessoais (idade, data e local de nascimento) peso e altura, utilizados para o cálculo do IMC (WHO, 1995), além de informações clínicas obtidas no prontuário do paciente como o valor do PSA, escore de Gleason e estágio da

doença. Considerou-se pouco agressivo aqueles pacientes com Gleason ≤ 7 e mais agressivo aqueles com Gleason >7 (BANGSI et al., 2006). Sobre ancestralidade foram realizadas perguntas sobre autodenominação de raça/cor (de acordo com as categorias estabelecidas pelo IBGE), história de mistura genética nos ancestrais (ancestralidade referida) e foi realizada classificação “racial” fenotípica (KRIEGER, 1965; PARRA, F., et al, 2003).

O sangue periférico foi coletado em tubo contendo EDTA e, posteriormente, foi realizada a extração do DNA. Foram analisados nove marcadores informativos de ancestralidade (AIMs), caracterizados no Quadro 1. Todos os marcadores possuem um alto diferencial de frequência ($>30\%$) entre as populações ancestrais (SHRIVER et al., 1997). A genotipagem foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e visualização direta do produto amplificado (análise de fragmento), para as inserções *Alu* e o *indel* e os SNP foram analisados por PCR- RFLP (PARRA, E., et al., 1998) ou PCR em Tempo Real. Os genes e variantes de suscetibilidade estudados foram: *CYP3A4* -392A>G, *CYP17* -34T>C e as deleções nos genes *GSTT1* e *GSTM1*.

Estatística descritiva foi utilizada para análise dos dados demográficos. Para a determinação das frequências alélicas foi utilizado o programa GENEPOP 4.2 (RAYMOND; ROUSSET, 1995; ROUSSET, 2008) e o programa *Structure* 2.2 (PRITCHARD et al., 2000) para estimar a contribuição ancestral de cada indivíduo, baseado nos genótipos das populações ancestrais (dados enviados pelo Dr. Mark D. Shriver). Para o cálculo de *Odds ratio*, intervalo de confiança e valor de *p* foi utilizado programa WinPep versão 11.26 (ABRAMSON, 2011).

AIM	rs	População com maior frequência no alelo*1	Localização	Tipo de polimorfismo	Metodologia
<i>AT3</i>	3138521	Africana	1q25.1	Índel	PCR
<i>APOA1</i>	3138524	Europeu	19p12	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>PV92</i>	3138522	Europeu	11q23.3	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>Sb19.3</i>	3138523	Ameríndia	16q23.3	Inserção <i>Alu</i>	PCR
<i>DARC</i>	2814778	Europeu	1q23.2	SNP	Real-Time PCR
<i>CKMM</i>	4884	Africana	8p21.3	SNP	Real-Time PCR
<i>LPL</i>	285	Ameríndia	19q13.32	SNP	Real-Time PCR
<i>GC*IF</i>	7041	Africano	4q13.3	SNP	PCR-RFLP
<i>GC*IS</i>	4588	Europeu	4q13.3	SNP	PCR-RFLP

Quadro 1. AIMs, rs, localização citogenética, população ancestral com maior frequência do alelo*1, tipo do polimorfismo e metodologia utilizada para análise dos AIMs

Resultados

A Tabela 1 apresenta as características gerais dos participantes da pesquisa. A média de idade em cada um dos grupos foi 70,3 anos, nos pacientes atendidos em clínicas particulares; 68,6 anos, nos pacientes atendidos pelo serviço público de saúde e 68,0 anos para os indivíduos sem CaP. Entre os indivíduos com CaP, a maioria daqueles que foram atendidos pelo serviço privado de saúde, bem como a maioria dos indivíduos sem CaP, nasceram na capital do estado, Salvador. Porém, a maioria dos pacientes com CaP que utilizou o serviço público de saúde nasceu no interior da Bahia. Com relação a obesidade, a maioria dos indivíduos com CaP atendidos em clínicas particulares e aqueles sem CaP estavam acima do peso e a maioria dos pacientes atendidos pelo serviço público de saúde estavam com o peso ideal. Maior risco de agressividade da doença foi observado entre os indivíduos com CaP atendidos no serviço público de saúde em comparação com aqueles atendidos por serviço privado, mas não foi estatisticamente significativo.

Tabela 1 - Características gerais da amostra

Variável	Amostra com CaP		Amostra sem CaP
	Serviço Privado N	Serviço Público N	Serviço Público N
Número	82	107	112
Idade (Média)	70,3	68,6	68,0
50-59 anos	12	19	21
60-69 anos	34	35	37
70-79 anos	15	40	41
80-89 anos	21	13	13
Cidade de Origem			
Interior da Bahia	19	76	34
Salvador	58	27	64
Outros estados	11	4	14
IMC (kg/m²)			
< 25	34	69	52
25 – 29,9	42	32	49
30,0 >	6	6	11
PSA (ng/mL)			
Média	38,0	54,5	2,3
Agressividade da doença			
Baixo	15	16	-
Alto	31	43	-

As frequências do alelo*1 para cada AIM analisado estão organizadas na Tabela 2. Nos polimorfismos do tipo *indel* e nas inserções *Alu*, o alelo *1 é caracterizado pela presença da inserção e nos SNPs, o alelo*1 é aquele cujo nucleotídeo abole o sítio de restrição. A maioria das frequências encontradas apresentaram valores intermediários com relação aos das populações ancestrais.

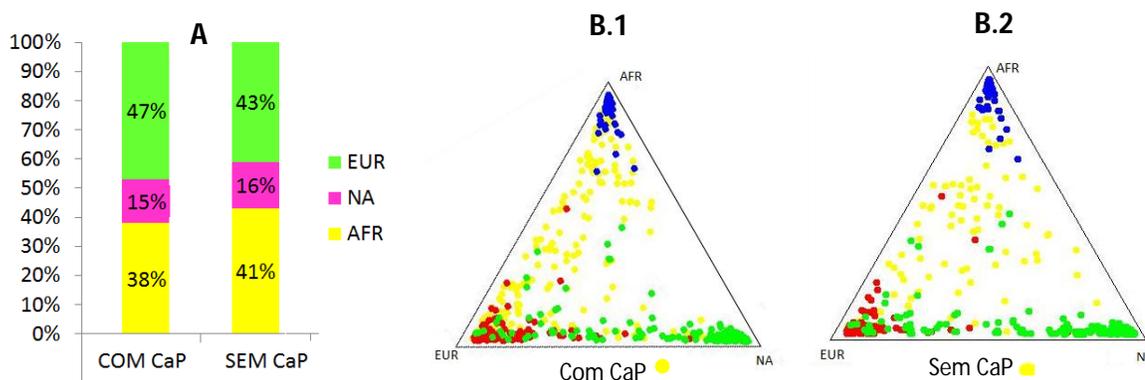
Tabela 2 - Frequências do alelo *1 dos AIMs nas populações ancestrais, no indivíduos com e sem CaP

<i>AIMs</i>	<i>AT3</i>	<i>APO</i>	<i>PV92</i>	<i>SB19,3</i>	<i>Fynull</i>	<i>CKMM</i>	<i>LPL</i>	<i>GC-F</i>	<i>GC-S</i>
Com CaP	0,569	0,838	0,287	0,657	0,547	0,307	0,727	0,464	0,474
Sem CaP	0,490	0,557	0,282	0,516	0,620	0,300	0,647	0,390	0,395
NA^a	0,159	0,945	0,764	0,675	0,993	0,882	0,442	0,340	0,542
EU^a	0,273	0,920	0,156	0,675	0,985	0,280	0,520	0,150	0,607
AF^a	0,880	0,460	0,200	0,675	0	0,153	0,974	0,847	0,069

^a = Shriver et al., 2003; AF = Africanos; EU = Europeus; NA = Nativo Americanos

A estimativa de ancestralidade genética mostrou maior contribuição europeia no total da amostra e entre os indivíduos com CaP (47%) e maior contribuição africana para os indivíduos sem CaP (43%), seguido pela relevante contribuição africana e europeia respectivamente (Figura 1– A). A distribuição dos indivíduos da população estudada em relação às populações ancestrais de acordo com a ancestralidade genética com está representada na figura 1 (B.1 e B.2).

Figura 1 . Contribuição da ancestralidade africana, europeia e ameríndia para indivíduos com e sem CaP.



AFR = Africanos; **EUR** = Europeus; **NA** = Nativo Americanos **A** - Estimativa média da contribuição da ancestralidade entre casos e controles; **B** - Distribuição dos indivíduos com (**B.1**) e sem CaP (**B.2**) de acordo com a contribuição dos grupos ancestrais.

A classificação por autodenominação estratificou a população em 17% de brancos, 47% de mulatos e 36% de negros e para a análise fenotípica estas frequências foram 36% de brancos, 36% de mulatos e 28% de negros. Comparando-se os três métodos de avaliar a ancestralidade observam-se que as frequências da análise fenotípica foram mais semelhantes às percentagens encontradas pela análise genotípica do que aquelas observadas na autodenominação.

Entre os 119 indivíduos com maior contribuição genética africana, a maioria se autodenominou ou foi classificada como negro, 49% e 45% respectivamente. Entre os 152 indivíduos que apresentaram maior contribuição genética europeia, a classificação fenotípica mostrou resultados mais aproximados que a autoclassificação (43% e 18% respectivamente) (Tabela 3). Apenas dois indivíduos se declararam índio e estes apresentaram maior contribuição genética ameríndia.

Tabela 3- Comparação entre os métodos de classificação racial/ancestral da população.

	Ancestralidade Africana ¹		Ancestralidade Europeia ²	
	N(%)	N(%)	N(%)	N(%)
	AD	CF	AD	CF
BRANCO	15 (12)	28 (23)	27 (18)	65(43)
NEGRO	58 (49)	53(45)	40 (26)	29 (19)
PARDO/MULATO	43 (36)	38 (32)	82 (54)	58 (38)
ÍNDIO	3 (3)	0	3(3)	0
Total	119	119	152	152

AD = Auto denominação; CF= Classificação fenotípica

¹ Homens que apresentaram maior ancestralidade genética africana

² Homens que apresentaram maior ancestralidade genética europeia

A estratificação da população segundo o serviço de saúde onde foram atendidos, independente da doença, mostrou que os indivíduos, que utilizaram o serviço de saúde privado, apresentam 54% de contribuição europeia, seguida de 28% de ancestralidade africana (Tabela 4), enquanto que aqueles oriundos do SUS apresentava maior contribuição africana (44%), seguida da ancestralidade europeia (41%) (dados não mostrados).

A substantificação dos indivíduos com CaP atendidos no serviço de saúde privado, pelo local de nascimento, mostrou que: entre os nascidos no interior houve maior contribuição europeia e entre os nascidos em Salvador, maior contribuição africana. Contribuição ancestral semelhante ocorreu entre os indivíduos sem CaP que tiveram atendimento pelo SUS. Porém,

entre os indivíduos com CaP, atendidos pelo SUS, houve maior contribuição africana independente do local de nascimento. Poucos indivíduos nasceram fora da Bahia e a inclusão ou retirada destes na estimativa de ancestralidade não altera os resultados (dados não mostrados).

Tabela 4. Estratificação das características da população segundo a ancestralidade.

Variável		Com CaP			Sem CaP		
		AF (%)	EU (%)	NA (%)	AF (%)	EU (%)	NA (%)
Ancestralidade							
Serviço de saúde utilizado							
	Serviço Privado	28	54	18	-	-	-
	Serviço Público	46	42	13	41	43	16
Cidade de Origem							
Serviço Privado	Interior da Bahia	27	58	15	-	-	-
	Salvador	43	38	19	-	-	-
	Outros estados	35	48	18	-	-	-
Serviço Público	Interior da Bahia	46	40	14	44	40	16
	Salvador	48	43	9	40	48	12
	Outros estados	27	57	16	37	38	25
IMC (kg/m²)							
	< 25	38	46	17	40	44	16
	25 – 29,9	37	48	15	42	40	18
	30,0 >	31	54	14	57	31	12
Agressividade da doença							
	Baixo	41	45	14	-	-	-
	Alto	40	45	15	-	-	-

AF = Africanos; EU = Europeus; NA = Nativo Americanos; IMC – índice de massa corpórea;

Não foi observada associação entre maior ancestralidade africana e homens obesos com CaP e nem com maior agressividade da doença (Tabela 4).

A frequência genotípica para cada um dos marcadores de suscetibilidade encontra-se na Tabela 5. Com relação ao gene *CYP3A4*, verificou-se que o aumento do risco para o CaP esteve associado com o variante G, como observado para os genótipos GG e AG+GG.

Observou-se associação entre a variante *CYP3A4* -392A>G com o CaP, independente da ancestralidade (Tabela 6). Porém, não foi observada associação positiva com a agressividade do tumor (Tabela 7).

Tabela 5 - Frequência genotípica dos marcadores de suscetibilidade para os indivíduos com e sem CaP

Gene	Genótipo/fenótipo	Com CaP	Sem CaP	OR	95%CI	Valor de <i>p</i>
<i>CYP3A4</i>	Genótipo	N=147	N=98			
	AA	38	45			
	AG	48	32	1.78	0.91 - 3.47	0.07
	GG	61	21	3.44	1.70 - 7.03	<0.001
	AG+GG	109	53	2.44	1.37 - 4.34	0.001
<i>CYP17</i>	Genótipo	N=88	N= 80			
	TT	22	30			
	TC	46	35	1.79	0.84 - 3.85	0.104
	CC	20	15	1.82	0.70 - 4.74	0.177
	CC+TC	73	50	1.99	0.98 - 4.06	0.039
<i>GST</i>	Fenótipo	N= 153	N=101			
	GSTM1-1	63	59			
	GSTM1-0	90	42	2.01	1.17 - 3.45	0.007
	GSTT1-1	125	80			
	GSTT1-0	28	21	0.85	0.43 - 1.70	0.623

N= número total de amostras genotipadas.

Não foi observado risco significativo ($p < 0,05$) associado à mutação *CYP17* -34T>C quando comparados os indivíduos com e sem CaP de modo geral (Tabela 5). Porém, ao estratificar a população a partir da ancestralidade genética, foi encontrada associação do alelo de risco em homens com maior ancestralidade africana e genótipo heterozigoto (TC) ou a combinação do genótipo CC e TC (Tabela 6), mas não houve associação da variante com agressividade da doença (Tabela 7).

Tabela 6 - Frequência genotípica dos marcadores de suscetibilidade nos indivíduos com e sem CaP estratificados por ancestralidade africana e europeia

Gene	Genótipo/fenótipo	Com CaP	Sem CaP	OR	95%CI	Valor de p
<i>CYP3A4</i>	Ancestralidade Africana	N=77	N= 30			
	AA	9	12			
	AG	27	10	4.93	1.42 - 17.34	0.004
	GG	41	8	6.83	1.88 - 25.23	0.001
	AG+GG	68	18	5.04	1.63 - 15.66	0.001
	Ancestralidade Europeia	N=70	N=70			
	AA	28	29			
	AG	17	16	1.10	0.43 - 2.83	0.828
	GG	19	4	4.92	1.37 - 21.97	0.006
	AG+GG	42	20	2.17	0.97 - 4.90	0.040
<i>CYP17</i>	Ancestralidade Africana	N=40	N= 35			
	TT	8	16			
	TC	28	11	5.09	1.50 - 17.75	0.003
	CC	4	8	1.00	0.17 - 5.31	1.000
	CC+TC	32	19	3.37	1.09 - 10.80	0.018
	Ancestralidade Europeia	N=48	N=45			
	TT	18	14			
	TC	19	21	0.70	0.25 - 1.98	0.464
	CC	11	10	0.86	0.25 - 2.98	0.784
	CC+TC	30	31	0.75	0.29 - 1.94	0.519
<i>GST</i>	Ancestralidade Africana	N=84	N=48			
	GSTM1-1	34	27			
	GSTM1-0	50	21	1.89	0.87 - 4.13	0.082
	GSTT1-1	76	37			
	GSTT1-0	16	9	0.87	0.32 - 2.45	0.755
	Ancestralidade Europeia	N=69	N=53			
	GSTM1-1	29	32			
	GSTM1-0	40	21	2.10	0.95 - 4.65	0.045
	GSTT1-1	49	43			
	GSTT1-0	12	16	0.66	0.25 - 1.68	0.337

N= número total de amostras genotipadas.

Para os genes *GSTT1* e *GSTM1*, apenas a variante *GSTM1-0* apresentou significativa associação com CaP (Tabela 5), mas não esteve relacionada à nenhum grupo estratificado pela ancestralidade (Tabela 6), nem com aumento da agressividade do tumor (Tabela 7).

Tabela 7 – Comparação entre frequência genotípica e agressividade do tumor nos grupos estratificados por ancestralidade africana e europeia

Gene	Genótipo/fenótipo	Grau de Agressividade		OR	95% CI	Valor de <i>p</i>
		Baixo	Alto			
<i>CYP3A4</i>	Ancestralidade Africana	N=28	N=52			
	AA	7	3			
	AG	10	17	0.25	0.04 - 1.48	0.078
	GG	11	30	0.16	0.02 - 0.87	0.011
	AG+GG	21	49	0.18	0.03 - 0.92	0.014
	Ancestralidade Europeia	N=48	N=26			
	AA	18	10			
	AG	7	10	0.39	0.09 - 1.58	0.135
	GG	13	6	1.20	0.30 - 5.11	0.771
	AG+GG	20	16	0.69	0.22 - 2.14	0.484
<i>CYP17</i>	Ancestralidade Africana	N=10	N=30			
	TT	2	6			
	TC	8	20	1.20	0.16 - 14.54	0.845
	CC	1	3	1.00	0.01 - 27.88	1.000
	CC+TC	8	24	1.00	0.14 - 12.07	1.000
	Ancestralidade Europeia	N=22	N=27			
	TT	10	8			
	TC	9	10	0.72	0.16 - 3.15	0.623
	CC	3	9	0.27	0.04 - 1.63	0.104
	CC+TC	12	19	0.51	0.13 - 1.91	0.258
<i>GST</i>	Ancestralidade Africana	N=42	N=42			
	GSTM1-1	21	13			
	GSTM1-0	21	29	0.45	0.17 - 1.19	0.077
	GSTT1-1	36	40			
	GSTT1-0	2	14	0.16	0.02 - 0.78	0.010
	Ancestralidade Europeia	N=29	N=40			
	GSTM1-1	15	14			
	GSTM1-0	14	26	0.50	0.17 - 1.49	0.168
GSTT1-1	23	26				
GSTT1-0	5	7	0.81	0.18 - 3.45	0.745	

N= número total de amostras genotipadas.

Discussão

A história da formação da população brasileira é marcada pela miscigenação entre ameríndios nativos, europeus e africanos. Essa miscigenação é corroborada por estudos genéticos que avaliaram a mistura nesta população utilizando marcadores frequentes em populações ancestrais (SANTOS et al., 2010; PARRA, E., et al., 1998; GONTIJO 2009; ABESANDES et al., 2004; ABESANDES et al., 2010; FELIX et al., 2010; LINS et al., 2010). No presente estudo, foram encontradas frequências intermediárias dos alelos*1 para cada AIM estudado confirmando o processo de miscigenação na amostra analisada.

A proporção dessas contribuições, no entanto, pode variar nas diferentes regiões e cidades do Brasil. Na Bahia, por exemplo, avaliando 1286 indivíduos de Salvador, Machado (2008) encontrou maior contribuição africana (49,2%), seguida da europeia (36,3%) e ameríndia (14,5%), proporção semelhante ao que foi encontrada por Felix e colaboradores (2010) em amostra de doadores de sangue na Bahia. Porém, no presente trabalho a ancestralidade europeia foi predominante na amostra em geral e também ao estratificá-la entre os indivíduos com e sem CaP.

Essa diferença pode ser explicada, pois a coleta das amostras não foi aleatória, e sim, por conveniência, considerando que o recrutamento dos participantes foi realizado em algumas poucas clínicas e hospitais de Salvador. Além disso, pode-se considerar que alguns aspectos geográficos e sociais são sugestivos de maior ancestralidade europeia, a exemplo da cidade de nascimento, ou bairro onde reside e maior nível de escolaridade. Machado (2008) observou que a cidade de Salvador apresenta diferentes proporções de miscigenação entre os bairros e Azevedo e colaboradores (1982) mostrou que na Bahia a ancestralidade africana é maior em cidades com relevante importância econômica ao longo da história, como na capital Salvador e algumas cidades da Chapada Diamantina, marcada no século XVII pelo ciclo da mineração e, onde ocorre, em contrapartida, o fenômeno de “branqueamento” da população à medida se afasta do litoral.

A heterogeneidade racial também pode ser observada nas diferentes demandas que utilizam o serviço de saúde público (SUS), população mais pobre e negra, e serviço privado (planos de saúde e consultas particulares), população com maior renda e de cor branca (RAMOS, 2001; PINTO; SORANZ, 2004).

No presente estudo, observou-se que os aspectos geográficos e socioeconômicos influenciaram a ancestralidade de maneira oposta. Ou seja, a maioria dos indivíduos provenientes do serviço privado de saúde, apesar de terem nascido em Salvador, apresentaram maior contribuição europeia e aqueles atendidos pelo SUS, apesar de terem nascido no interior, apresentaram maior contribuição africana. Assim, a ancestralidade africana teve maior relação com menor nível socioeconômico, representado pelo atendimento no SUS, do que com o local de nascimento.

Considerando a ancestralidade associada ao CaP, dados epidemiológicos mostram que esta neoplasia é mais frequente e mais agressiva entre afrodescendentes se comparado aos caucasianos com a mesma idade (CRAWFORD, 2009; HOWLADER, 2012; BRAWLEY, 1998; LITTRUP, 1997). A incidência em norte-americanos é de 139 a 216 casos a cada 100.000 homens por ano, enquanto que entre os caucasianos é de 78 a 135 casos a cada 100.000 homens por ano (CURADO et al., 2007). No Brasil, poucos trabalhos abordam a relação do CaP com ancestralidade. Na Bahia, apenas o estudo de Paschoalin e colaboradores (2003) foi realizado com este objetivo e a partir da análise de 473 voluntários na cidade de Ipirá-BA encontrou maior prevalência de CaP entre os indivíduos com maior ancestralidade africana.

É importante lembrar que a maioria dos dados epidemiológicos sobre associação de doenças e raça se baseiam em autodenominação de raça/cor, desta forma, é altamente relevante verificar se na nossa população este método reflete a ancestralidade genética. Nossos dados mostraram que a ancestralidade genética foi mais semelhante à análise racial fenotípica do que quando comparada a autodenominação, provavelmente porque neste tipo de análise levam-se em consideração vários aspectos morfológicos característicos dos principais grupos ancestrais e não apenas a cor da pele. Além disso, neste estudo a classificação foi realizada por profissionais com treinamento específico neste tipo de avaliação. Esta concordância também já tinha sido observada por Bomfim, 2008, analisando uma amostra de 517 indivíduos da Bahia.

Estudos realizados nos EUA e no Brasil mostraram que a cor da pele não reflete a ancestralidade genética (PARRA, F., et al., 2003; PARRA, E., et al., 2004). Vale ressaltar também que o processo de miscigenação nestes dois países, pode ter sido diferente. Assim, os indivíduos denominados afroamericanos podem não ter a mesma contribuição genética africana que os afrodescendentes brasileiros. Isso porque são considerados afroamericanos indivíduos que

possuem qualquer grau de ancestralidade africana conhecida independente das características fenotípicas noção que tornou-se conhecida como a "regra de uma gota," o que significa que uma única gota de "sangue negro" torna uma pessoa um considerada preta (DAVIS, 2001). Enquanto que no Brasil são considerados afrodescendentes aqueles que apresentam características morfologias do grupo ancestral africano (SALZANO; FREIRE-MAIA, 1967). Desse modo, estudos que comparem estas duas populações, no que se refere à autodenominação racial e associação a doenças, devem ser considerados com cautela, como por exemplo avaliação sobre a suscetibilidade de afrodescendentes ao CaP, para evitar falsas associações (PARIS et al., 1999; BANGSI et al., 2006; KITTLES et al., 2002).

Observados estes aspectos, Shriver (2003) sugeriu o uso de AIMs, para estimar a ancestralidade biogeográfica, por ser um método biológico, portanto, livre de interferências culturais, em detrimento da autodenominação de raça/cor. Mais recentemente, alguns estudos sobre o risco de CaP em afroamericanos tem utilizado AIMs (KITTLES et al., 2002; GIRI et al., 2009; BONILLA et al., 2011; TANDON et al., 2011) e assim permitiram verificar a associação entre algumas variantes genéticas e o CaP nesta população.

Uma das explicações para a maior suscetibilidade e pior prognóstico de afrodescendentes ao CaP seria o menor nível sócio econômico dessa população, que já foi associado com maior ancestralidade africana (ABE-SANDES et al., 2010) e baixo nível de escolaridade (MAGNUS, 2004). Abbott e colaboradores (1999) observaram que os afroamericanos apresentam menor conhecimento sobre o CaP e subestimam o seu risco em comparação aos caucasianos, o que diminui a probabilidade de participação em triagens clínicas e o reconhecimento de sintomas que levem à procura por atendimento e tratamento precoce (O'DELL et al., 1999).

No presente estudo houve maior contribuição europeia tanto no grupo composto por indivíduos com CaP como também entre aqueles sem CaP. Porém, ao considerar apenas os indivíduos atendidos pelo SUS, a contribuição africana foi maior naqueles com CaP, e nos indivíduos sem CaP, a maior contribuição foi europeia. Apesar desta aparente associação, cabe lembrar que, os indivíduos com CaP atendidos pelo SUS também apresentam alta contribuição europeia se comparada à africana (42% e 46% respectivamente). Uma possível explicação seria, por exemplo, o maior nível de esclarecimento/escolaridade dos indivíduos que procuram por tratamento para esta neoplasia, o que reflete maior branqueamento populacional. Além disso, considerando-se que, os medicamentos para tratamento do CaP são de alto custo, mas são

fornecidos gratuitamente pelo SUS, e que, uma parcela considerável dos idosos e da população do interior não dispõe de plano de saúde (PINTO; SORANZ, 2004), a procura pelo serviço de saúde pública, neste caso, pode ocorrer independentemente do nível socioeconômico/escolaridade.

A obesidade também é discutida como um relevante fator que deve ser considerado para explicar a maior suscetibilidade ao CaP em populações afrodescendentes. Sabe-se que a obesidade está associada com alterações nos níveis de inúmeros hormônios incluindo fator de crescimento (IGF-1), estrógeno, testosterona, leptina, adiponecitina e insulina, além de aumentar a produção de mediadores inflamatórios, eventos importantes para a progressão do CaP (MASSENGILL et al., 2003; NELSON et al., 2003; WEISS et al., 2007). Além disso, os obesos com CaP apresentam aumento do risco de progressão e também maior risco de mortalidade (PAREKH et al., 2010). Foi observado que a obesidade entre os afroamericanos com CaP é mais prevalente, a doença é mais avançada e os indivíduos apresentam maior probabilidade de fracasso no tratamento quando comparados aos caucasianos (NCHS, 2009; SPANGLER et al., 2007). Porém, o estudo de Su e colaboradores (2011) encontrou associação entre obesidade e o CaP independente do grupo racial. No presente estudo não foi observada associação entre obesidade e maior ancestralidade africana o que pode ter ocorrido devido ao pequeno número de obesos com e sem a doença (12 e 11 respectivamente) (Tabela 1).

Além da maior incidência de CaP em homens afroamericanos, foi observado que a doença é mais agressiva, com alta taxa de mortalidade, duas vezes maior do que a observada em outros grupos raciais (HOWLADER, 2012). Porém, no presente estudo não foi observada associação entre maior ancestralidade genética africana, autodenominação raça/cor e maior agressividade do CaP. Essas diferenças podem ser devido às diferentes formas de avaliar a ancestralidade.

Com relação à suscetibilidade genética, não foi observada associação entre o CaP e a mutação *CYP3A4-392A>G*, nem de forma global, nem estratificada por ancestralidade. Outros estudos observaram maior suscetibilidade e maior agressividade da doença associados a esta mutação em afroamericanos (REBBECK et al., 1988; PARIS et al., 1999; ZEIGLER-JOHNSON et al., 2002; BANGSI, et al. 2006; ZHOU et al., 2012; TAIOLI, et al., 2013).

A enzima codificada pelo gene *CYP3A4*, oxida a testosterona em um metabólito menos ativo, a hidroxitesterona, diminuindo a biodisponibilidade da testosterona e assim seu potencial proliferativo celular. Desse modo, os homens portadores da mutação *CYP3A4* -

392A>G, apresentam maior quantidade de testosterona disponível para ser convertida em dihidrotestosterona, metabólito ativo que estimula a divisão celular na próstata (HASHIMOTO, 1993).

O variante G tem frequência de 80% em indivíduos da África Subsaariana, 68% em afroamericanos, cerca de 2% e caucasianos ou hispânicos e não foi encontrada em chineses ou japoneses (NICKERSON et al, 2005). A elevada frequência deste alelo em afroamericanos e africanos pode conduzir a uma falsa associação com CaP, se não houver pareamento adequado dos controles levando em consideração a ancestralidade (KITTTLES et al., 2002). Recente metanálise avaliou 14 estudos caso-controle e não encontrou evidências de associação entre *CYP3A4* -392A>G e CaP de modo geral ou estratificado por ancestralidade (TAIOLI et al., 2013), porém havia apenas um estudo que incluía homens brasileiros e este tratava de indivíduos do sul do país, historicamente colonizado por europeus.

Observou-se associação entre o alelo de risco (*CYP17* -34C) em homens com maior ancestralidade africana e genótipo heterozigoto (TC) ou a combinação do genótipo CC e TC, mas não houve associação da variante com agressividade da doença. Não foi observada associação com o genótipo homozigoto (CC) provavelmente devido ao pequeno número de indivíduos com genótipo homozigoto.

Biologicamente o *CYP17* codifica enzimas importantes na biossíntese da testosterona. O variante C origina um segundo sítio promotor e provoca o aumento da taxa de transcrição desse gene, aumentando a biodisponibilidade de testosterona e elevando o risco de proliferação celular (FAN et al., 1992). A maior frequência desse variante foi descrita em populações de homens afroamericanos com CaP e também esteve associada à maior agressividade (FAN et al., 1992;GSUR, 2004).

A metanálise realizada por Taioli et al. (2013) observou associação apenas entre a variante mutante e o CaP em afroamericanos. Em nosso trabalho a associação só foi estatisticamente significativa no grupo de indivíduos que apresentaram maior ancestralidade africana. Ainda no estudo de metanálise, os autores sugerem que fatores dietéticos e/ou níveis hormonais endógenos variam com a raça/ etnia e estariam modulando genes como o *CYP17* (TAIOLI et al., 2013).

Associação com agressividade da doença não foi observada em nosso estudo entretanto, haviam poucos indivíduos com a doença em estágio avançado.

As glutatona S-transferases (GSTs) são uma importante família de enzimas envolvidas na biossíntese e metabolismo de muitas substâncias, incluindo a detoxicação de substâncias químicas exógenas cancerígenas, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH). GSTs também podem desintoxicar reativos endógenos dos metabólitos de hormônios esteróides como o estradiol (E2)-quinonase espécies reativas de oxigênio. Isoformas específicas de GST no μ (M1), θ (T1) e π (P1) classes são altamente expresso na próstata e, portanto, os polimorfismos genéticos que modificam a atividade dessas GSTs podem afetar o nível de metabólitos carcinogênicos neste tecido (Di PAOLO et al., 2005).

O genótipo GSTM1-0 aumentou o risco de mortalidade por CaP em homens caucasianos (AGALLIU et al., 2006), no entanto, poucos estudos relacionaram os potenciais efeitos dos polimorfismos em GSTs para homens com ancestralidade africana e com agressividade do tumor. Nock e colaboradores (2009) relataram que o genótipo GSTT1-0 em afroamericanos estava associado ao risco aumentado para a recidiva bioquímica e para agressividade do tumor. Em caucasianos, o aumento do risco foi observado em pacientes com tumores em estágio avançado e o genótipo GSTM1-0. Em estudo de metanálise, Taioli e colaboradores (2011), encontraram associação positiva entre GSTM1-0 e CaP em afroamericanos fumantes, porém, em caribenhos e africanos, GSTM1-0, bem como GSTT1-0, apresentaram efeito protetor. No presente estudo, apenas o genótipo GSTM1-0 esteve associado positivamente com o risco de CaP em homens com maior ancestralidade africana.

Os resultados contraditórios para a associação dos genótipos de GSTT1-0 e GSTM1-0 e CaP em populações que apresentam contribuição genética africana variável (caribenha, africana, afroamericana e brasileira), pode ser resultado da exposição destas populações à diferentes fatores de risco exógenos e/ou endógenos que atuam em diferentes vias metabólicas podendo aumentar a suscetibilidade ao CaP. Informações sobre tais exposições não foram coletadas e analisadas no presente estudo, mas merecem atenção em futuras pesquisas. A inflamação crônica, os níveis hormonais, infecções bacterianas e virais e produtos químicos ambientais, além de hábito de fumar (MULTIGNER, 2010) são algumas variáveis que merecem atenção em estudos futuros de interação gene-ambiente na etiologia do CaP em populações de ascendência africana.

A maioria dos indivíduos com e sem CaP apresentaram maior contribuição europeia. A relação entre ancestralidade africana e CaP, porém, foi observada para o polimorfismo *CYP17* - 34T>C.

Foi observado também associação entre o genótipo *GSTM1*-0 e o CaP, independente da ancestralidade. Considerando que as diferenças de ancestralidade entre populações podem ser um fator de confusão em estudos de associação, esta variável precisa ser corretamente controlada, especialmente em estudos em populações que apresentem grande miscigenação como a população da Bahia. Só assim, poderão ser esclarecidos os fatores genéticos que predisõem algumas populações a determinadas doenças, como os afrodescendentes ao CaP.

5. CONCLUSÕES

No presente estudo não foi verificada associação entre maior contribuição ancestral africana e CaP. De modo geral, foi observada maior ancestralidade europeia entre os indivíduos com CaP e sem CaP.

As frequências alélicas dos AIMs nas amostras estudadas foram intermediárias com relação aos grupos ancestrais corroborando que estes grupos contribuíram para a miscigenação encontrada na população de Salvador.

Tanto o método de avaliação da ancestralidade por autodenominação como a classificação fenotípica permitiram verificar a miscigenação da população, entretanto houve maior semelhança entre os métodos fenotípico e ancestralidade genética, apesar deste último ser o mais indicado para a classificação populacional.

A ancestralidade africana teve maior relação com menor nível socioeconômico do que com o local de nascimento.

Não foi possível avaliar associação entre obesidade, ancestralidade africana e maior risco para o CaP, devido ao pequeno número de pacientes obesos.

A deleção em *GSTM1* parece influenciar na maior suscetibilidade dos homens ao CaP e mais especificamente, o polimorfismo *CYP17* -34T>C pode explicar a predisposição de afrodescendentes à esta doença. Porém, nenhuma delas ajuda a entender o aumento da agressividade do tumor.

Contudo é necessário a ampliação do tamanho amostral para a confirmação dos resultados encontrados neste trabalho. Assim, elas poderão, no futuro, ser utilizadas para identificar indivíduos com maior ou menor susceptibilidade ao CaP e auxiliar na triagem para obtenção do diagnóstico cada vez mais precoce.

REFERÊNCIAS

- ABE-SANDES, K; SILVA, W.A.J.R.; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro Brazilian populations. **Human Biology**, v.76, n.1, p.77-86, 2004.
- ABE-SANDES, K. et al. Ancestralidade Genômica, nível socioeconômico e vulnerabilidade ao HIV/aids na Bahia, Brasil. **Saúde Sociedade**, (USP. Impresso), v. 19, p.75-84, 2010.
- ABBOTT, R.R.; TAYLOR, D.K.; BARBER, K. A comparison of prostate knowledge of African– American and Caucasian men: changes from prescreening baseline to post intervention. **Cancer Journal from Scientific American**, v.4, p.175–7, 1998.
- ABRAMSON, J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives & Innovations**, v.8, n.1, 2011.
- AGALLIU, I. et al. Polymorphisms in the glutathione S-transferase M_1 , T_1 , and P_1 genes and prostate cancer prognosis. **The Prostate**, v.66, n.14, p.1535–1541, 2006.
- ARCOT, S.S. et al. High-resolution cartography of recently integrated human chromosome 19-specific Alu fossils. **Journal of molecular biology**, v.4;281, n.5, p.843-56, Setembro 1998.
- ARRUDA, R. et al. Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (GSTM1) and theta (GSTT1) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? **Clinical Genetics**, v.54, p.210–214, 1998.
- AUTRUP, H. Genetic polymorphisms in human xenobiotic metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. **Mutation Research**, v.464, p. 65-76, 2000.
- AZEVEDO, E.S. et al. Mating types in a mixed and multicultural population of Salvador, Brazil. **Revista Brasileira de Genética**, v.9, n.3, p.487-496, Sept. 1986.
- BANGSI, D. et al. Impact of a genetic variant in CYP3A4 on risk and clinical presentation of prostate cancer among white and African-American men. **Urologic Oncology**, v.24, n.1, p.21-7, 2006.

BARBOSA, A.A.L. et al. Microsatellite studies on an isolated population of African descent in the Brazilian state of Bahia. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p. 23-30, 2006.

BATZER, M.A. et al. African origin of human-specific polymorphic Alu insertions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.91, n.25, p.12288-92, 1994.

BEEBE-DIMMER, J.L. et al. Genetic Variation in Adiponectin (ADIPOQ) and the Type-1 Receptor (ADIPOR1), Obesity and Prostate Cancer in African Americans. **Prostate Cancer and Prostatic Disease**, v.13, n.4, p.362-368, 2010.

BEUTEN, J. et al. Single and Multigenic Analysis of the Association between Variants in 12 Steroid Hormone Metabolism Genes and Risk of Prostate Cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v.186, p.1869-80, Jun 2009.

BOMFIM, T.F. **Ancestralidade Genômica em portadores do HIV-1 da Bahia**. 2008. Dissertação de Mestrado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/FIOCRUZ. Salvador-BA.

BONILLA, C. et al. Prostate Cancer Susceptibility Loci Identified on Chromosome 12 in African Americans. **PLoS ONE**, v.6, n.2, e16044, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2005: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2004. 94p

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2007. 94p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativas 2012: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011. 118p.

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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **TNM: classificação de tumores malignos / traduzido por Ana Lúcia Amaral Eisenberg.** 6. ed. - Rio de Janeiro: INCA, 2004. 254p.

BRAUN, A.; BICHLMAIER, R.; CLEVE, H. Molecular analysis of the gene for the human vitamin-D-binding protein (group-specific component): allelic differences of the common genetic GC types. **Human Genetics**, v.89, p.401-406, 1992.

BRAWLEY, O.W. Prostate cancer and black men. **Seminars in Urologic Oncology**, v.16, p.184-6, 1998.

CALLE, E.E. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. **New England Journal of Medicine**, p.348:1625, 2003.

CALLEGARI-JACQUES, S.M.; SALZANO, F.M. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. **Ciência e Cultura**, v.51, p.166-174, 1999.

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

CAVALLI-SFORZA, L.L.; BODMER, W.F. **The genetics of human population.** W.H. Freeman. San Francisco, 1971.

CERRI, M.O.; AJZEN, S.; ARAP, S.; CERRI, G.G. **Ultra-sonografia da próstata.** Anatomia, 1. ed. São Paulo: Salvier, 1996.

COUGHLIN, S.S.; HALL, I.J. A review of genetic polymorphisms and prostate cancer risk. **Annals of Epidemiology**, v.12, p.182-196, 2002.

CRAWFORD, E.D. Understanding the epidemiology, natural history, and key pathways involved in prostate cancer. **Urology**, v.73, S4-10, 2009.

CURADO, M.P. et al. **Cancer incidence in five continents.** IX. IARC Press; Lyon, France: 2007.

DAMIÃO, R.; CARRETIE, F.B. Câncer de Próstata. **Jornal CFM**, p.13, 1997.

D'AMICO, A.V. et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. **The Journal American Medical Association**, v.280, p.969-74, 1998.

DAVIS, F.J. **Who is black?** One nation's definition. Pennsylvania State University Press, University Park, 2001.

DAWSON, D.M.; EPPENBERGER, H.M.; EPPENBERGER, M.E. Multiple molecular forms of creatine kinases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.151, p.616-626, 1968.

DEVLIN, T. **Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas**, Tradução da sexta edição americana. Edgard Blücher, 2002.

Di PAOLO, O.A. et al. Expression of cytochromes P450 and glutathione S-transferases in human prostate, and the potential for activation of heterocyclic amine carcinogens via acetyl-coA-, PAPS- and ATP-dependent pathways. **International Journal of Cancer**, v.117, p.8-13, 2005.

DONAHUE, R.P. et al. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v.61, p.949-955, 1968.

FAN, Y.S. et al. Localization of the human CYP17 gene (cytochrome P450(17 alpha)) to 10q24.3 by fluorescence in situ hybridization and simultaneous chromosome banding. **Genomics**, v.14, n.4, p.1110-1, 1992.

FELIX, G. E.; ABE-SANDES, K.; BONFIM, T.M. et al Ancestry informative markers and complete blood count parameters in Brazilian blood donors. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.32, n.4, p.282-285, June 2010.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; MOKDAD, A.H. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. Adults. **Diabetes Care**, v.27, n.10, p.2444-2449, 2004.

FOWLER, J.E.; BIGLER, S.A. A prospective study of the serum prostate specific antigen concentrations and Gleason histologic scores of black and white men with prostatic carcinoma. **Cancer**, v.86, p.836-41, 1999.

FREEDLAND, S.J. et al. Clinical characteristics in black and white men with prostate cancer in an equal access medical center. **Urology**, v.55, n.3, p.387-390, 2000.

FREEDLAND, S.J. et al. Obesity, serum prostate specific antigen and prostate size: implications for prostate cancer detection. **The Journal of Urology**, v.175, p.500-504. 2006.

GATTÁS, G.J.F.; SOARES-VIEIRA, J.A. Cytochrome P450-2E1 and glutathione S-transferase mu polymorphisms among Caucasians and mulattoes from Brazil. **Occupational Medicine**, v.50, n.7, p.508-511, 2000.

GATTÁS, G.J.F. et al., Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n.34, p.451-458, 2004.

GIRI, V.N. et al., Race, genetic west african ancestry, and prostate cancer prediction by prostate-specific antigen in prospectively screened high-risk men. **Cancer Prevention Research**, v.2, p.244, 2009.

GLEASON, D.F. et al. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histologic grading and clinical staging. **The Journal of Urology**, v.111, p.58-64, 1974.

GONG, M. et al. Genetic Polymorphisms of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 with Prostate Cancer Risk: A Meta-Analysis of 57 Studies. **PLoS ONE**, v.7, n.11, e.50587, 2012.

GONTIJO, C.C. **Composição genética de duas populações afro-derivadas brasileiras inferida a partir de marcadores informativos de ancestralidade**. 2008. 66 f., Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

GREENE, F.L.P.D. et al. **AJCC Cancer Staging Manual**. 6th ed. New York: Springer, 2002.

GRÖNBERG, H. Prostate cancer epidemiology. **Lancet**, v.361, p.859-64, 2003.

GRÖNBERG, H.; WIKLUND, F.; DAMBER, J.E. Age specific risks of familial prostate carcinoma. **Cancer**, v.86, n.3, p.477-83, 1999.

GSUR, A. et al. A polymorphism in the CYP17 gene is associated with prostate cancer risk. **International Journal of Cancer**, v.87, p.434-437. 2000.

HADLEY, T.J. et al. Identification of an erythrocyte component carrying the Duffy blood group Fy-a antigen. **Science**, v.223, p.597-599, 1984.

HASHIMOTO, H. Gene structure of CYP3A4, an adult-specific form of cytochrome P-450 in human livers, and its transcriptional control. **European Journal of Biochemistry**, v. 218, p.585-595, 1993.

HATAGIMA, A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, n.18, p.357-377, 2002.

HOWLADER, N. et al. **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009** (Vintage 2009 Populations), National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2009_pops09/, based on November 2011 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores Sociais Municipais: uma análise dos resultados do universo do Censo Demográfico 2010** v.28. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

KARATHANANIS, S.K.; ZANNIS, V.I.; BRESLOW, J.L. Characterization of the apolipoprotein A-I-C-III gene complex. **Methods in Enzymology**, v.128, p.712-26, 1986.

KESHAHA, C.; MCCANLIES, E.C.; WESTON, A. CYP3A4 polymorphisms--potential risk factors for breast and prostate cancer: a HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v.160, n.9, p.825-41, 2004.

KITTLES, R.A.; CHEN, W.; PANGULURI, R.K. CYP3A4-V and prostate cancer in African Americans: causal or confounding association because of population stratification? **Human Genetics**, v.110, p.553-560, 2002.

KRIEGER, H. et al. Racial admixture in north-eastern Brazil. **Annals of Human Genetics**, London, v.29, p.113-25, 1965.

LAHIRI, D.K.; NURNBERGER, J.I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v.19, n.19, p.5444, 1991.

- LAMBA, J.K. et al. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.54, p.1271–94, 2002.
- LITTRUP, P.J. Editorial: Prostate cancer in African-American men. **Prostate**, v.31, p.139, 1997.
- LINS, T.C. et al. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. **American Journal of Human Biology**, v.22, n.2, p.187-92, 2010.
- LIU, Y. et al. Linkage disequilibrium between two loci (5'untranslated exon 1 and intron 5-DdeI) of the antithrombin III gene in three ethnic groups in Singapore. **Human Heredity**, v.45, n.4, p.192-8, Jul-Aug 1995.
- LY, D. et al. Association of body mass index with prostate cancer biochemical failure. **The Journal of Urology**, v.183, p.2193-2199, 2010.
- MACHADO, T.M.B. **Ancestralidade em Salvador-BA**. Dissertação de Mestrado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/FIOCRUZ. Salvador.BA. 2008.
- MAGNUS, M. Prostate cancer knowledge among multiethnic black men. **Journal of the National Cancer Institute**, v.96, p.650–6, 2004.
- MASSENGILL, J.C. et al. Pretreatment total testosterone level predicts pathological stage in patients with localized prostate cancer treated with radical prostatectomy. **The Journal of Urology**, v.169, p.1670, 2003.
- MOUL, J.W. et al. Prostate-specific antigen values at the time of prostate cancer diagnosis in African-American men. **The Journal of the American Medical Association**, v.274, p.1277–81, 1995.
- MULTIGNER, L. et al. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v.28, p.3457-3462, 2010.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. **Health**, United States, 2009: With Special Feature on Medical Technology. Hyattsville, MD. 2010.

NELSON, W.G.; DE MARZO, A.M.; ISAACS, W.B. Prostate cancer. **New England Journal of Medicine**, v.349, p.366–81, 2003.

NELSON, D. L; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3rd ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NELSON, D.R.; KAMATAKI, T.; WAXMAN, D.J. The P450 superfamily update on new sequences, genemapping, accession, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. **DNA and Cell Biology**, v.12, n.1, p.1-5, 1993.

NICKERSON, D.A. et al. **An overview of the environmental genome project**. Essay son the Future of Environmental Health Research: A Tribute to Dr Keneth Olden, p. 42-53, 2005.

NOCK, N.L. et al. Polymorphisms in glutathione S-transferase genes increase risk of prostate cancer biochemical recurrence differentially by ethnicity and disease severity. **Cancer Causes and Control**, v.20, n.10, p.1915–1926, 2009.

O'DELL, K.J; VOLK, R.J; CASS, A.R. Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: are patients making informed decisions? **Journal of Family Practice**, v.48, n.9, p.682-8, 1999.

PEDERSEN, V.H.; ARMES, J.; REAM, E. Perceptions of CaP in Black African and Black Caribbean men: a systematic review of the literature. **Psycho-oncology**, v.21, n.5, p.457-68, 2012.

PAREKH, N. et al. Obesity and Prostate Cancer Detection: Insights from Three National Surveys. **The American Journal of Medicine**, v.123, n.9, 2010.

PARIS, P.L. Association between a CYP3A4 genetic variant and clinical presentation in African-American prostate cancer patients. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v.8, n.10, p.901-5, 1999.

PARL, F.F. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. **Cancer Letters**, v.221, n.2, p.123-9, 2005.

- PARRA, F.C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.100, p.177-82, 2003.
- PARRA, E.J. et al. Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. **American Journal of Human Genetics**, v.63, n.6, p.1839-51, 1998.
- PARRA, E.J. et al. Ancestral proportions and admixture dynamics in geographically defined African Americans living in South Carolina. **American Association of Physical Anthropologists**, v.114, n.1, p.18-29, 2001.
- PASCHOALIN, E.L. et al. Racial influence on the prevalence of prostate carcinoma in Brazilian volunteers. **Journal of the Brazilian Society of Urology**, v.29, n.4, p.300-5, 2003.
- PINTO, L.F.; SORANZ. Planos privados de assistência à saúde: cobertura populacional no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.9, n.1, p.85-98, 2004.
- PRITCHARD, J.K.; DONNELLY, P. Case-control studies of association in structured or admixed populations. **Theoretical Population Biology**, v.60, p.227–237, 2001.
- RAMOS, C.A. Aspectos Distributivos do Gasto Público na Saúde. **Planejamento e Políticas Públicas**, Brasília, n.24, dez 2001.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, v.86, p.248-249, 1995.
- REAVEN, G.M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v.37, n.12, p.1595–1607, 1988.
- REBBECK, T.R. et al. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. **Journal of the National Cancer Institute**, v.90, p.1225-1229, 1998.
- RICHIE, J.P. et al. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. **Urology**, v.42, p.365-74, 1993.
- ROUSSET, F. Genepop'007: a complete reimplement of the Genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, v.8, p.103-106, 2008.

SALZANO, F.M.; FREIRE-MAIA, N.F. **Populações brasileiras** – Aspectos demográfico, genéticos e antropológicos. São Paulo: Companhia Editora Nacional (USP), 1967.

SAMPAIO, F.J.B. et al. Anatomia do trato genital do homem. In: Barata, H.S et al. **Urologia: princípios e prática**: 1.ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., v.1, c.1, p.36-44, 1999.

SANTOS, et al. Assessing Individual Interethnic Admixture and Population Substructure Using a 48-Insertion-Deletion (INSEL) Ancestry-Informative Marker (AIM) Panel. **Hum Mutation**, v.31, n.2, p.184–190, 2010.

SARMA, A.V. et al. Genetic Polymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBP-3 and Prostate Cancer Risk in African-American Men: The Flint Men's Health Study Prostate. **Prostate**, v.68, n.3, p. 296–305, 2008.

SHRIVER, M.D. Ethnic Variation as a Key to the Biology of Human Disease. **Annals of Internal Medicine**, v.127, n.5, p.401-403, 1997.

SHRIVER, M.D. et al. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Human Genetics**, v.112, n.4, p.387-99, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **Câncer de Próstata: Prevenção e Rastreamento**. Projeto Diretrizes. 2006. 14p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **CÂNCER DE PRÓSTATA**. Em: <<http://www.sbu.org.br/2010/03/cancer-de-prostata/>>. Acessado em: 13 de março de 2012.

SPANGLER, E. et al. Association of Obesity With Tumor Characteristics and Treatment Failure of Prostate Cancer in African-American and European American Men. **The Journal of Urology**, v.178, p.1939-1945. 2007.

SROUGI, M. Adenocarcinoma da próstata. In: Barata,H.S; Carvalhal,G.F.et al. **Urologia: princípios e prática**: 1.ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., v.1, cap.34, p.356-72, 1999.

STEPANOV, V.A.; LEMZA, S.V. PvuII restriction fragment length polymorphism of lipoprotein lipase in Russians. **Human Heredity**, v.43, n.6, p.388-90, Nov-Dec 1993.

- SU, L.J., et al. Obesity and prostate cancer aggressiveness among African and Caucasian Americans in a population-based study. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, v.20, n.5, p.844-53, 2011.
- TAIOLI, E. et al. La Multi-institutional prostate cancer study of genetic susceptibility in populations of African descent. **Carcinogenesis**, v.32, n.9, p.1361-1365, 2011.
- TAIOLI, E. et al. Polymorphisms in CYP17 and CYP3A4 and prostate cancer in men of African descent. **Prostate**, v.73, n.6, p.668-76, 2013.
- TANDON, A. et al. Ancestry Informative Marker Panels for African Americans Based on Subsets of Commercially Available SNP Arrays. **Genetic Epidemiology**, v.35, p.80–83, 2011.
- TOURNAMILLE, C. et al. Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy negative individuals. **Nature genetics**, v.10, p.224-228, 1995.
- TSAI, H.J. et al. Admixture-matched case-control study: a practical approach for genetic association studies in admixed populations. **Human Genetics**, v.118, p.626–639, 2006.
- ZEIGLER-JOHNSON, C.M. Ethnic differences in the frequency of prostate cancer susceptibility alleles at SRD5A2 and CYP3A4. **Human Heredity**, v.54, n.1, p.13-21, 2002.
- ZHOU, L.P.; YAO, F.; LUAN, H. CYP3A4*1B polymorphism and cancer risk: A HuGE review and meta-analysis. **Tumor Biology**, v.34, n.2, p.649-60, Nov, 2012
- YANAGIHARA, R. et al. Molecular phylogeny and dissemination of human T-cell lymphotropic virus type I viewed within the context of primate evolution and human migration. **Cellular and Molecular Biology** (Noisy-le-grand), v.1, p.145-61, 1995. Supplement 41.
- WANG, M.C. et al. Purification of a human prostate specific antigen. **Investigative urology**, v. 17, n2, p.159-163, 1979.
- WATKINS, W.S. et al. Patterns of ancestral human diversity: an analysis of Alu-insertion and restriction-site polymorphisms. **American journal of human genetics**, v.68, n.3, p.738-52, Mar 2001.

WEISS, J.M. et al. IGF-1 and IGFBP-3: risk of prostate cancer among men in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Screening Trial. **International journal of cancer**, v.121, p. 2267, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Agency for Research on Cancer. **Globocan 2008**. Lyon, 2008 a. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr/>>. Acesso em: 22/01/13

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry**. WHO Technical Report Series 854. Geneva: WHO. 1995.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E PRÉ-ESCLARECIDO

IDENTIFICAÇÃO DA ANCESTRALIDADE GENÔMICA DE PORTADORES DE CÂNCER DE PRÓSTATA DO ESTADO DA BAHIA

Coordenadora e Oncologista Responsável:

Dra. Ivana Lucia de Oliveira Nascimento – CREMEB: 10845

Equipe:

Dra. Kiyoko Abe Sandes; Dra. Ivana Lucia de Oliveira Nascimento; Dra. Maria Betânia Pereira Toralles; Dra. Taisa Manuela Bonfim Machado; Dra. Renata Costa Cangussu; Dra. Songeli Menezes Freire; Dr. Roberto José Meyer Nascimento

Identificação do paciente:

Nome:

Serviço de origem:

Registro na Unidade/Laboratório:

Endereço:

Bairro:

Cidade:

UF:

CEP:

Fone:

Você(s) está(ão) convidado(s) a participar voluntariamente de um estudo que será realizado dentro do complexo universitário e faz parte dos processos de ensino e pesquisa. Este estudo é parte de um projeto de pesquisa que identificará a contribuição dos índios, dos africanos e europeus na formação da nossa população e a relação desta contribuição com o desenvolvimento de determinados tipos de câncer. Leia atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento. No caso de não entender bem, peça mais esclarecimentos e só assine após ter certeza de ter esclarecido todas as dúvidas.

Eu, _____ RG _____, concordo em participar do projeto de pesquisa que lida com questões de identificação de ancestralidade, características clínicas e histopatológicas e de genes associados a câncer e sua relação com o tipo de neoplasia e ancestralidade. Serei examinado por uma equipe multidisciplinar, terei o prontuário analisado com coleta de informações e farei vários exames e/ou participarei de procedimentos diversos necessários para o estudo.

Procedimentos:

Eu compreendo que, se eu concordar em participar deste serviço, os técnicos envolvidos farão perguntas a respeito de meus antecedentes médicos, familiares e pessoais. Serei submetido a

exame físico para avaliação do meu estado clínico. Além disso, poderei ser submetido a coletas de sangue para realização de exames laboratoriais e de análises genéticas e moleculares. Concordo com a análise do meu prontuário médico existente no serviço onde tenho o acompanhamento oncológico e com a liberação, pelo Serviço de Anatomia Patológica, do material do tumor que foi retirado cirurgicamente para realização de análise molecular e genética. A participação no estudo também autoriza que as amostras coletadas sejam armazenadas e possam ser utilizadas em análises futuras, desde que os estudos adicionais sigam os aspectos éticos determinados nas resoluções 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde. O material coletado será processado, analisado e estocado no Setor de Oncogenética do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Riscos e Desconforto:

Entendo que, para os exames laboratoriais será preciso colher de 20 a 30 mL de sangue venoso o qual poderá ser obtido de uma vez ou mais de uma vez segundo recomendado pelo médico. Os riscos associados a este procedimento são mínimos podendo, contudo, ocorrer dor e/ou manchas roxas (equimoses), quando for feita a coleta de sangue. Além disso, tenho consciência de que o desconforto será o menor possível, pois a coleta será feita por um profissional treinado e devidamente habilitado para realizá-la.

Vantagens:

Percebo que, com minha participação, estarei contribuindo para identificar e diagnosticar o tipo de tumor, caracterizar minha ancestralidade e analisar as bases genéticas da minha patologia e assim permitindo a aquisição de maior conhecimento sobre a doença o que também será útil para ajudar outras pessoas. Se necessário, os médicos e demais participantes da equipe desta Unidade ajudar-me-ão a lidar com minhas dificuldades. Fui informado também que qualquer membro da minha família que deseje obter uma orientação clínico-genética poderá ser atendido neste serviço caso tenha a devida indicação ou encaminhado a outro serviço quando necessário.

Sigilo:

Foi-me assegurado que toda a informação médica, incluindo os resultados dos exames realizados, fará parte do meu prontuário e será submetida aos regulamentos do Hospital estando protegida pela lei do sigilo. Os técnicos comprometem-se a manter todas as informações obtidas, tanto das anamneses quanto dos resultados dos exames realizados sob o máximo sigilo para que a minha privacidade permaneça plenamente resguardada.

Publicação Científica:

Foi-me garantido que na publicação de resultados parciais ou totais em revistas científicas ou congressos será mantido o sigilo da minha identidade e preservada a minha privacidade e nenhum nome será citado, mas apenas códigos de identificação que serão reconhecidos pelos próprios técnicos.

Fornecimento de Informação Adicional:

Informaram-me ainda, que posso requisitar informações adicionais relativas à doença, riscos e prognóstico bem como a possíveis tratamentos.

Recusa ou Descontinuação da Avaliação:

A respeito da minha decisão, de querer ou não aceitar as condições aqui descritas, reconheço que a minha anuência é voluntária e que me resguardo o direito de recusar ou retirar o meu consentimento para me submeter a exames ou intervenções clínicas ou psicológicas, a qualquer momento. No entanto, na qualidade de paciente comprometo-me a, antecipadamente, comunicar à equipe técnica sobre a minha decisão de não continuar participando dos exames ou intervenções sugeridas para que a minha decisão não prejudique o bom andamento dos trabalhos que estão sendo desenvolvidos nesta Unidade de Aconselhamento.

Nome do participante:

Assinatura do participante:

Nome da testemunha:

Assinatura da testemunha:

Local e data:

CLÁUSULA A SER LIDA E ASSINADA PELO TÉCNICO RESPONSÁVEL:

Informo que expliquei ao paciente _____ sobre as implicações da sua participação na avaliação realizada nesta Unidade comprometendo-me a esclarecê-lo(a) a respeito de exames, procedimentos necessários ou quaisquer intervenções relevantes para a identificação das alterações genéticas e fatores de riscos. Comprometo-me a alertar o paciente sobre os possíveis riscos bem como as vantagens que poderão advir destes procedimentos. Comprometo-me também a responder a questionamentos do paciente usando, para este fim, o melhor do meu conhecimento. Ratifico a minha responsabilidade, especialmente frente ao pessoal auxiliar, de continuamente enfatizar a necessidade de se manter sigilo absoluto sobre as informações obtidas nos diversos procedimentos realizados neste serviço. Assumo ainda a responsabilidade de fornecer uma cópia deste formulário de consentimento ao paciente, após assinatura de todos os envolvidos, ficando outra cópia anexada ao prontuário do paciente.

Nome do técnico responsável:

CREMEB:

Assinatura do técnico:

Local e data:

APÊNDICE B - Questionário para os casos da pesquisa

QUESTIONÁRIO

1.	Data da entrevista:	Entrevistador(a):
2.	Nome do paciente: _____ Nome do Pai: _____ Nome da Mãe: _____ Filiação Biológica: ()1. Sim ()2. Não ()3. Não sabe informar	
3.	Data de Nascimento:	
4.	Cidade de residência:	De nascimento:

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DO PACIENTE

5.	Raça/Cor (Auto-denominação): ()1. Negro ()2. Pardo ()3. Branco ()4. Indígena ()0. Outros
6.	Cabelo (Textura): ()1. Crespo ()2. Ondulado ()3. Liso
7.	Nariz: ()1. Achatado ()2. Médio ()3. Fino
8.	Lábios (Forma): ()1. Grossa ()2. Média ()3. Fina
9.	Pele (Cor): ()1. Preta ()2. Marrom ()3. Branca
10.	Raça/Cor (Análise fenotípica): ()1. Negro ()2. Mulato Escuro ()3. Mulato Médio ()4. Mulato Claro ()5. Branco ()0. Outros

ANCESTRALIDADE REFERIDA DOS PAIS E AVÓS DO PACIENTE

11.	Pai : ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro: ()0. Não sabe informar Local de nascimento:
12.	Mãe: ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro ()0. Não sabe informar Local de nascimento:
13.	Avó Materna: ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro ()0. Não sabe informar Local de nascimento:
14.	Avô Materno: ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro ()0. Não sabe informar Local de nascimento:
15.	Avó Paterna: ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro ()0. Não sabe informar Local de nascimento:
16.	Avô Paterno: ()1. Negro ()2. Mulato ()3. Branco ()4. Índio ()5. Outro ()0. Não sabe informar Local de nascimento:

DADOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS – CAP

17.	Estadiamento: ()1. I ()2. II ()3. III ()4. IV T: N: M: () () () 0. Não tem dados
18.	Metástases : ()1. sim ()2. não Caso tenha metástases – Local: ()1. osso ()2. linfonodo ()3. Visceral
19.	Grau histológico: GLEASON ()1. Bem diferenciado ()2. Moderadamente diferenciado ()3. Pouco diferenciado ()4. Indiferenciado ()5. Não avaliado. PSA ao diagnóstico : ()1. < 10 ng/ml ()2. 10-20 ng/ml ()3. > 20 ng/ml PSA Valor em ng/ml ()
20.	Data do diagnóstico histopatológico – Onde foi realizado
21.	Tratamento: 1. Prostatectomia radical : ()1. Sim ()2. Não Margens cirúrgicas comprometidas : ()1. Sim ()2. Não Vesículas seminais comprometidas : ()1. Sim ()2. Não Cápsula comprometida : ()1. Sim ()2. Não Linfonodos comprometidos: ()1. Sim ()2. Não 3. () Não avaliados 2. Radioterapia : ()1. Sim ()2. Não Associado a hormonioterapia ()1. Sim ()2. Não 3. Radioterapia: ()1. Sim ()2. Não 4. Hormonioterapia: ()1. Sim ()2. Não 5. Observação : ()1. Sim ()2. Não
22.	Recidiva: ()1. Sim ()2. Não Data:
23.	Tipo de recidiva: ()1. Ossea ()2. Visceral ()3. Loco-regional
24.	Peso ao diagnóstico: Altura ao diagnóstico: Histórico familiar de câncer: Data da 1ª consulta: Hábitos de fumar:

DADOS DOS PACIENTES CONTROLES

17.	Peso: Altura: Histórico familiar de câncer:
18.	Valor do PSA em ng/ml ():
19.	Hábitos de fumar:
20.	

ANEXO 1 - Parecer do Comitê de Ética em pesquisa da FTC



SOCIEDADE MANTENEDORA DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DA BAHIA LTDA

Rede de ensino



FUNDAÇÃO DE TECNOLOGIA E CIÊNCIAS

Comitê de Ética em Pesquisa

CEP/PARECER 01.342-2009

Salvador, 14 de setembro de 2009

L. IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO

REGISTRO: 1.342
DATA DA ENTRADA: 14/08/2009
REFERÊNCIA: 1º Parecer
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof.ª Ivana Lucia de Oliveira Nascimento
PESQUISADORES: Paula Brito, Camila Azevedo, Marcos Silva, Camila Sandes, Lorena Meyer, Luiz Barreto
INSTITUIÇÃO: UFBA
CURSO: Medicina

TÍTULO DA PESQUISA: Análise da ancestralidade e de genes de susceptibilidade em portadores de câncer de mama e de próstata no estado da Bahia.

OBJETIVO: Estudar a associação entre a ancestralidade, os genes de susceptibilidade e as características clínicas e histopatológicas de uma amostra de portadores de câncer de mama e de próstata do Estado da Bahia.

2. PARECER DO RELATOR (A)

O projeto atende os requisitos éticos de pesquisa na área de saúde humana. Salvo melhor juízo sou de parecer pela aprovação deste projeto.

3. PARECER DO CEP

Apresentado a este Comitê para análise ética, segundo a Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde. Cópia do projeto arquivado em nossa secretaria. Após apresentação pelo relator e discussão pelos Conselheiros e projeto foi considerado:

<input checked="" type="checkbox"/>	Aprovado
<input type="checkbox"/>	Com pendência -60 dias para encaminhar o que foi sugerido.
<input type="checkbox"/>	Reprovado

Atenciosamente,

DR. MOYSES SADIGURSKY
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa /SOMESB

Avenida Luis Viana Filho, 8812, Modulo 4, nível 2 - Paralela. Salvador/Ba - CEP: 41.741-590
Fone: (71) 3281-8214 / 8212 Fax: (71) 3281-8213 - E-mail: ffc@fundacaoftc.org.br / www.fundacaoftc.org.br

ANEXO 2 - Parecer do Comitê de Ética em pesquisa do Hospital Santo Antônio



Of. CEP 096/2011

Salvador, 3 de agosto de 2011.

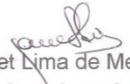
Sra. Ivana Lucia de Oliveira Nascimento
Pesquisadora Responsável

Prezada Senhora,

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Santo Antônio tomou conhecimento e aprovou *ad referendum* o **Protocolo de Pesquisa nº 34/11**, do estudo intitulado **“Análise da ancestralidade e de genes de susceptibilidade em pacientes portadores de câncer de mama e de próstata no Estado da Bahia”**, depois de analisada a resolução das pendências.

Reiteramos a necessidade de ser encaminhado relatório periódico até 3/Fevereiro/2012 (6 meses após a aprovação) ou relatório final, se o término ocorrer antes dessa data.

Atenciosamente,


Janet Lima de Melo
Coordenadora do CEP
Hospital Santo Antônio