



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GENÉTICA MOLECULAR DO CANCRO DA PRÓSTATA

Trabalho submetido por
Vanessa Sofia Miranda da Silva
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GENÉTICA MOLECULAR DO CANCRO DA PRÓSTATA

Trabalho submetido por
Vanessa Sofia Miranda da Silva
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Alexandra Maia e Silva

novembro de 2016

Dedicatória

Aos meus pais, os meus guerreiros, obrigada por acreditarem em mim!

Agradecimentos

Aos meus pais, aos amores da minha vida, a quem devo tudo aquilo que sou hoje, agradeço-lhes do fundo do coração por estarem sempre a meu lado e por me ajudarem na realização de mais um sonho.

À minha orientadora Professora Doutora Alexandra Maia e Silva por toda a disponibilidade, amabilidade e atenção para comigo no decorrer desta monografia. Agradeço por cada segundo que dispensou a acudir todas as minhas angústias e por todas as palavras de carinho que comigo partilhou, apoiando-me incansavelmente no decorrer de todo este percurso.

À minha irmã, a minha metade, obrigada por tudo aquilo que significas para mim.

À minha família que teve a bondade de acreditar sempre em mim, e que desempenharam papéis fundamentais transmitindo-me infinito amor e generosidade tornando tudo isto possível.

Ao Miguel que esteve sempre a meu lado ao longo de todo este trajeto, por toda a paciência e carinho demonstrados e pelo apoio incondicional.

Às minhas melhores amigas e amigos pela paciência e compreensão, em todos os momentos mais delicados, estou-lhes eternamente grata por todo o apoio e companheirismo prestado.

Por fim, agradeço às instituições que me acolheram enquanto estagiária e que tantas aprendizagens me proporcionaram.

Resumo

O cancro da próstata representa um dos tipos de cancro mais frequente em indivíduos do sexo masculino em Portugal e a nível mundial. As alterações genéticas e epigenéticas são características de quase todos os tumores malignos, apesar de ainda não terem sido totalmente identificadas, estas encontram-se na base dos mecanismos moleculares envolvidos na carcinogénese do cancro da próstata.

A identificação das alterações genéticas e epigenéticas envolvidas no desenvolvimento e progressão do cancro da próstata torna-se cada vez mais importante não só na identificação de novos alvos terapêuticos, como também na deteção de biomarcadores de prognóstico e diagnóstico.

O antigénio específico da próstata (PSA) continua a ser o biomarcador mais utilizado para o rastreio do cancro da próstata. Todavia, o aumento dos níveis de PSA não é específico da patologia maligna, sendo observado também em situações benignas específicas. Assim torna-se premente a identificação de outros biomarcadores tumorais para o cancro da próstata, podendo ser detetados a partir do RNA ou de alterações genéticas ou epigenéticas de DNA.

Nesta revisão bibliográfica, o principal objetivo baseou-se em tentar correlacionar novos fatores genéticos e possíveis polimorfismos, nomeadamente genes como o *MTHFR*, *KLK3* ou PSA e os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* da família GST, de forma a avaliar a existência de interligação entre os genes considerados e o aumento da suscetibilidade ao cancro da próstata.

Assim considera-se extremamente importante proceder não só à identificação e caracterização de genes, mas também à análise de polimorfismos nos mesmos, de modo a que o diagnóstico e o respetivo tratamento sejam realizados o mais precocemente possível, melhorando assim a qualidade de vida do doente.

Para proceder à elaboração da presente monografia, foram pesquisados cerca de 180 artigos entre as datas 1999 e 2016, nas seguintes bases de dados: ScienceDirect, PubMed, Google Scholar e b-on.

Palavras-chave: cancro da próstata, biomarcadores tumorais, fatores genéticos, polimorfismos

Abstract

Prostate cancer is one of the most common types of cancer in males, in Portugal and worldwide. Genetic and epigenetic alterations are characteristic of almost all malignant tumors, and although they have not yet been fully identified, these represent the basis of the molecular mechanisms involved in prostate cancer carcinogenesis.

The identification of genetic and epigenetic alterations involved in the development and progression of prostate cancer is becoming increasingly important, not only in the identification of new therapeutic targets but also as mean of detection of prognostic and diagnostic biomarkers.

The prostate specific antigen (PSA) remains the most commonly used biomarker for prostate cancer screening. However, PSA levels increase is not specific for malignancy, being also observed in specific benign situations. So it is urgent to identify other tumor biomarkers for prostate cancer that can be detected from RNA or DNA genetic or epigenetic changes.

In this review, the main purpose was trying to correlate new genetic factors and possible polymorphisms – including genes such as *MTHFR*, *KLK3* or PSA and *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* GST family –, in order to assess the existence of a connection between the mentioned genes and increased susceptibility to prostate cancer.

Thus is considered of extreme importance to make not only the identification and characterization of genes, but also to the analyze the present polymorphisms, in order to provide a diagnosis and an appropriate treatment as soon as possible, thereby improving the patient's quality of life.

For the purpose of the present paper about 180 papers were analyzed, from between 1999 and 2016, on the following data bases: ScienceDirect, PubMed, Google Scholar and b-on.

Keywords: prostate cancer, tumoral biomarkers, genetic factors, polymorphisms

Índice Geral

Resumo	1
Abstract	3
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas.....	9
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução Teórica	15
1.1. Próstata	16
1.1.1. Anatomia.....	16
1.1.2. Histologia.....	19
1.2. Doenças da Próstata.....	20
1.2.1. Prostatite	20
1.2.2. Hiperplasia Benigna Prostática	21
1.2.3. Cancro da Próstata	22
2. Mecanismos de carcinogénese no Cancro da Próstata	29
2.1. Mutações germinativas	29
2.2. Hipermetilação das ilhas CpG – <i>GSTPI</i>	31
2.3. Disfunção dos telómeros	31
2.4. Amplificações no 8q.....	32
2.5. Diminuição da expressão <i>NKX3.1</i>	33
2.6. Fusão genética <i>TMPRSS2-ERG</i>	33
2.7. Perda de função do <i>PTEN</i>	34
2.8. Perda de função do <i>CDKN1B</i>	35
2.9. Perda de função do <i>Rb</i>	35
2.10. Perda de função do <i>FOXO1A</i>	35
2.11. Perda de função do <i>CDHI</i>	36
2.12. Amplificação de porções do cromossoma 7	36
2.13. Amplificação de porções do cromossoma Xq e Mutação do <i>AR</i>	37

2.14. Mutação do <i>TP53</i>	37
3. Biomarcadores do Cancro da Próstata.....	39
3.1. Biomarcadores no sangue e na urina	39
3.2. Marcadores Imunocitoquímicos	43
4. Fatores genéticos do Cancro da Próstata	47
4.1. Gene <i>MTHFR</i>	47
4.1.1. Polimorfismo C677T do gene <i>MTHFR</i>	48
4.2. Gene <i>KLK3</i> ou PSA.....	49
4.2.1. Proteína PSA.....	50
4.2.2. Polimorfismo ARE-I do gene <i>KLK3</i>	53
4.3. Genes <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i> da família GST	56
4.3.1. Gene <i>GSTM1</i>	56
4.3.2. Gene <i>GSTT1</i>	57
4.3.3. Gene <i>GSTP1</i>	58
4.3.4. Polimorfismo A313G do gene <i>GSTP1</i>	59
5. Tratamento do Cancro da Próstata	61
5.1. Tratamento do Cancro da Próstata localizado	61
5.1.1. Vigilância Ativa e Espera Vigilante	62
5.1.2. Prostatectomia Radical	62
5.1.3. Braquiterapia.....	63
5.1.4. Radioterapia Externa.....	63
5.2. Tratamento do Cancro da Próstata avançado (localmente avançado ou metastático) 63	
5.2.1. Terapia hormonal/Terapia de privação de androgénios.....	63
5.3. Tratamento do cancro da próstata resistente à castração	65
5.4. Tratamento de complicações ósseas	65
6. Conclusão	67
Bibliografia.....	71

Anexos

Índice de Figuras

Figura 1: Localização anatômica da próstata	16
Figura 2: Localização posterior da próstata, bexiga e vesículas seminais.....	18
Figura 3: As quatro zonas anatômicas da próstata	19
Figura 4: Incidência estimada do cancro da próstata nos homens.....	23
Figura 5: Mortalidade estimada do cancro da próstata nos homens.....	23
Figura 6: Mecanismo molecular de hipermetilação das ilhas CpG da região promotora do gene <i>GSTP1</i> como biomarcador precoce do cancro	41
Figura 7: Localização do gene <i>MTHFR</i> no braço curto (p) do cromossoma 1 na posição 36.22	47
Figura 8: Metabolismo do folato	48
Figura 9: Organização do <i>locus</i> da família de genes <i>KLK</i>	49
Figura 10: Localização do gene <i>KLK3</i> no braço longo (q) do cromossoma 19 na posição 13.41	50
Figura 11: Elementos reguladores presentes no promotor do gene <i>KLK3</i>	50
Figura 12: Localização do gene <i>GSTM1</i> no braço curto (p) do cromossoma 1 na posição 13.3	57
Figura 13: Localização do gene <i>GSTT1</i> no braço longo (q) do cromossoma 22 na posição 11	57
Figura 14: Localização do gene <i>GSTP1</i> no braço longo (q) do cromossoma 11 na posição 13.2	58

Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação de acordo com o Instituto Nacional de Saúde (NIH) dos Estados Unidos da América para os vários tipos de prostatite	20
Tabela 2: Taxa de incidência de tumores malignos por patologia em Portugal, dados de 2007	24
Tabela 3: Indicadores de mortalidade relativos ao tumor maligno da próstata, em Portugal Continental, no período de 2007 a 2011	24
Tabela 4: Alterações genéticas e epigenéticas somáticas comuns no CP.....	30
Tabela 5: Marcadores imunocitoquímicos específicos utilizados no diagnóstico do CP.	44
Tabela 6: Níveis de referência do PSA total associados à faixa etária.....	52
Tabela 7: Principais estudos publicados que estabelecem a associação do polimorfismo rs266882 e o risco de desenvolver CP.....	54
Tabela 8: Principais estudos encontrados sobre a associação do polimorfismo A313G e o risco de desenvolver CP	59
Tabela 9: Estratégias terapêuticas associadas ao estadiamento tumoral	61
Tabela 10: Grupos de risco para o CP localizado.....	62
Tabela 11: Definições de vigilância ativa e espera vigilante.....	62
Tabela 12: Agonistas de LHRH utilizados em prática clínica.....	64
Tabela 13: Anti-androgénios utilizados em prática clínica	65

Lista de Abreviaturas

ADT – Terapia de Privação de Androgénios (do inglês *Androgen Deprivation Therapy*)

AMACR – *Alfa-Methylacyl-CoA-Racemase*

AR – Recetor de Androgénio (do inglês *Androgen Receptor*)

ARE – Elemento de resposta ao androgénio (ARE) (do inglês *Androgen Response Element*)

ATM – *Ataxia Telangiectasia Mutada*

BRCA – Gene do Cancro da Mama (do inglês *Breast Cancer*)

CDH1 – *Cadherin 1*

CDKN1B – *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1B*

CK – Citoqueratina (do inglês *CytoKeratin*)

CP – Cancro da Próstata

CP/CPPS – Prostatite crónica/Síndrome de dor pélvica (do inglês *Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*)

Da – *Dalton*

DHT – *Dihidrotestosterona*

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)

EAU – *European Association of Urology*

EGF – *Epidermal Growth Factor*

ELAC2 – *ElaC Homólogo 2* (do inglês *ElaC Homolog 2*)

ERG – *ETS-Related Gene*

ETS – *Erythroblast Transformation-Specific*

EZH2 – *Enhancer of Zeste Homolog 2*

FOXO – *Forkhead box, class “Q”*

GnRH – Hormona Libertadora de Gonadotrofina (do inglês *Gonadotropin Releasing Hormone*)

GST – *Glutathione S-Transferase*

HBP – *Hiperplasia Benigna Prostática*

HGPIN – Neoplasia Intraepitelial Prostática de Alto Grau (do inglês *High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia*)

HPC – Cancro da Próstata Hereditário (do inglês *Hereditary Prostate Cancer*)

ICQ – *Imunocitoquímica*

IGFBP-3 – *Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3*

IGF-I – *Insulin-like Growth Factor I*

ISUP – Sociedade Internacional de Patologia Urológica (do inglês *International Society of Urological Pathology*)

kb – Kilo bases

KLK – *Kallikrein-Related Peptidase*

KLK3 – *Kallikrein-Related Peptidase 3*

LH – Hormona Luteinizante (do inglês *Luteinizing Hormone*)

LHRH – Hormona Libertadora da Hormona Luteinizante (do inglês *Luteinizing Hormone Releasing Hormone*)

lncRNA – RNA não codificante longo (do inglês *Long Noncoding RNA*)

LUTS – Sintomas do trato urinário inferior (do inglês *Lower-Urinary Tract Symptoms*)

miRNA – microRNA

ml – milillitro

mRNA – RNA mensageiro

MSR1 – *Macrophage Scavenger Receptor 1*

MTHFR – Enzima Metilenotetrahidrofolato Redutase

ng – nanograma

NIH – Instituto Nacional de Saúde (do inglês *National Institute of Health*)

NKX3.1 – *NK3 Homeobox 1*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAP – Fosfatase Ácida Prostática (do inglês *Prostatic Acid Phosphatase*)

PCA3 – Antígeno do Cancro da Próstata 3 (do inglês *Prostate Cancer Antigen 3*)

PI3K/Akt – Via de Sinalização fosfatidilinositol 3'- cinase/Akt (do inglês *Phosphoinositide-3-kinase/Akt*)

PIA – Atrofia Inflamatória Proliferativa (do inglês *Proliferative Inflammatory Atrophy*)

PIN – Neoplasia Intraepitelial Prostática (do inglês *Prostatic Intraepithelial Neoplasia*)

PRC2 – *Polycomb Repressive Complex 2*

PSA – Antígeno Específico Prostático (do inglês *Prostate-Specific Antigen*)

PTEN – *Phosphatase and Tensin Homolog*

RASSF1A – Família Domínio de Associação a Ras isoforma 1A (*Ras association domain Family 1 isoform A*)

Rb – Retinoblastoma

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

RNASEL – Ribonuclease L

SNP – Polimorfismo de Nucleótido Único (do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*)

TGF- β – *Transforming Growth Factor β*

TMPRSS2 – *Transmembrane Protease, Serine 2*

TNM – Tumor primário, Gânglios e Metástases (do inglês *primary Tumor, lymph Nodes, Metastasis*)

1. Introdução Teórica

À medida que a esperança média de vida aumenta, não só em Portugal, mas em todo o mundo, tem-se verificado um aumento da incidência do cancro da próstata. O cancro da próstata representa um dos tipos de cancro mais frequente em indivíduos do sexo masculino (Ferlay et al., 2014; Umbreit et al., 2012).

Tal como noutros tipos de neoplasia, o cancro da próstata também se caracteriza por um crescimento descontrolado de células. Neste caso, o cancro desenvolve-se a partir de células glandulares que produzem o sémen e o crescimento anormal de células forma massas tumorais que vão aumentando de tamanho ao longo do tempo, o que leva a uma atrofia da próstata, impedindo que esta realize as funções normais (Matos et al., 2015; Nunes, Pimentel, Pina, & Rolo, 2010; Sousa & Lopes, 2007).

Ao contrário dos outros tumores, o cancro da próstata tem uma evolução muito lenta, o que leva a um aparecimento tardio dos sintomas (Gartner & Hiatt, 2006).

Existem alguns fatores de risco que parecem contribuir para o desenvolvimento do cancro da próstata, como a dieta rica em ácidos gordos polinsaturados e predisposição familiar. No entanto, o principal fator de risco é a idade, este tumor raramente é encontrado em homens com idade inferior a 40 anos e aumenta significativamente a incidência por cada década de vida (Bostwick et al., 2004). Para além dos fatores descritos anteriormente, ainda se pode considerar a raça dos indivíduos, fatores ambientais, o tabagismo e o elevado consumo de laticínios (Bostwick et al., 2004).

Torna-se cada vez mais importante proceder à identificação e caracterização de genes, nomeadamente à análise de polimorfismos nos genes, de modo a que o diagnóstico e a respetiva terapêutica sejam realizados o mais precocemente possível.

Nesta introdução teórica, irei salientar a morfologia e anatomia da próstata, bem como as patologias mais comuns da mesma, dando ênfase ao cancro da próstata.

Também serão abordados alguns fatores genéticos associados a este tipo de cancro, focando os polimorfismos mais frequentes de cada gene considerado.

Por fim, irei mencionar o tratamento do cancro da próstata, salientando as principais terapêuticas instituídas.

1.1 Próstata

A próstata é uma glândula exócrina, integrante do aparelho reprodutor masculino, que tem como função a produção de sémen. Esta glândula é alvo de várias patologias, como por exemplo a hiperplasia benigna da próstata, prostatite e ainda o cancro da próstata (Patrício, 2015; Sousa & Lopes, 2007).

1.1.1 Anatomia

A glândula prostática tem a forma de uma pirâmide arredondada, fibromuscular que circunda o começo da uretra masculina, pesa cerca de 20g e normalmente é de 4 cm de comprimento e 4-5 cm de largura (Hacking & Maingard, 2015; Umbreit et al., 2012).

Habitualmente tem o tamanho de uma noz e é envolvida por um revestimento externo, a cápsula prostática (Muruve, 2013; Patrício, 2015).

Esta localizada à frente do reto entre a bexiga e o esfíncter externo, mais concretamente no nível inferior da pelve menor, na região pélvica, posterior à sínfise púbica, anterior à ampola do reto, superior à membrana perineal e inferior à bexiga (Figura 1) (Muruve, 2013).

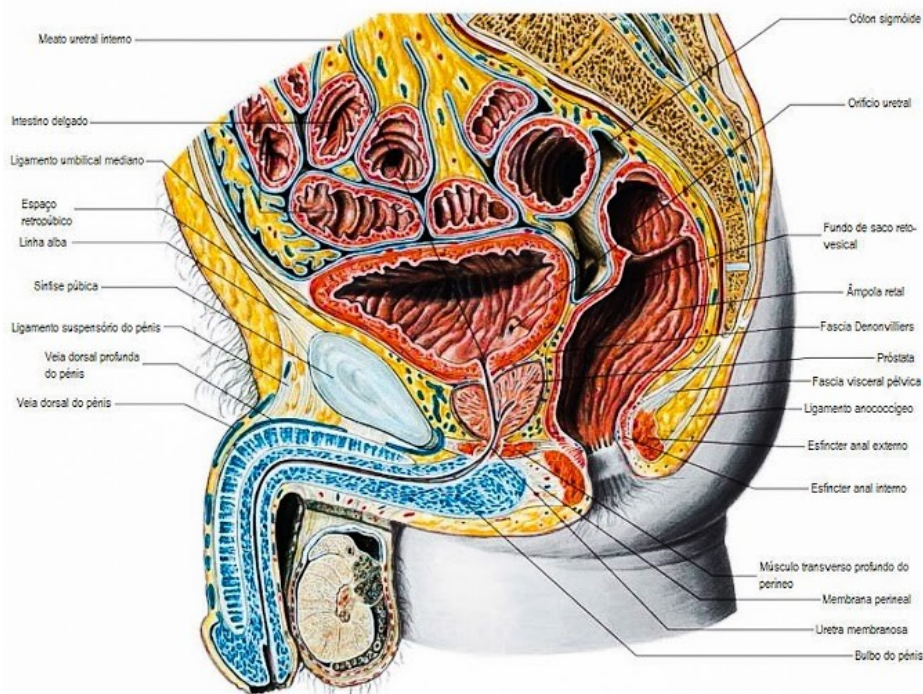


Figura 1: Localização anatómica da próstata (adaptada de Standring et al., 2008).

A próstata apresenta uma base que se encontra em continuidade com a bexiga, envolvendo a porção inicial da uretra e um ápice, inferior que rodeia o esfíncter uretral (Hacking & Maingard, 2015; Muruve, 2013).

Em relação à inervação da próstata, esta é inervada por nervos periféricos que provêm do plexo prostático, formados por fibras nervosas parassimpáticas que têm origem dos nervos esplâncnicos pélvicos (derivados de S2 a S4) e por fibras nervosas simpáticas dos plexos hipogástricos inferiores (localizados na coluna torácica, de T11 até à lombar, L2) que se situam no músculo liso, que circunda os ductos e os ácinos glandulares. A inervação prostática controla a micção e a ejaculação (Standring et al., 2008).

A irrigação sanguínea da próstata é feita principalmente a partir da artéria vesical inferior, que se origina da artéria ilíaca interna (hipogástrica), originando dois grupos de ramos de artérias, a uretral e a capsular (Muruve, 2013; Ovalle & Nahirney, 2013; Standring et al., 2008).

O sangue venoso da próstata é drenado através do plexo puboprostático e vesicoprostático, para as veias vesical e hipogástrica. Este plexo recebe contribuições da veia dorsal profunda do pênis e de diversas veias prostáticas, que afluem para o plexo venoso dorsal sobre a cápsula protática (Ovalle & Nahirney, 2013).

A drenagem linfática realiza-se através de vasos linfáticos prostáticos, que drenam tanto para os gânglios linfáticos ilíacos internos, como para os ilíacos externos, sacrais e lombares, constituindo a rede peri-próstática (Schunke, Schulte, Schumacher, Voll, & Wesker, 2013; Standring et al., 2008).

As vesículas seminais estão localizadas entre a bexiga e o reto, obliquamente acima da base da próstata, apresentando um orifício que comunica com o ducto ejaculatório, através da junção dos canais deferentes de cada vesícula seminal (Figura 2) (Hacking & Maingard, 2015; Kim & Kim, 2013; Muruve, 2013; Ovalle & Nahirney, 2013).

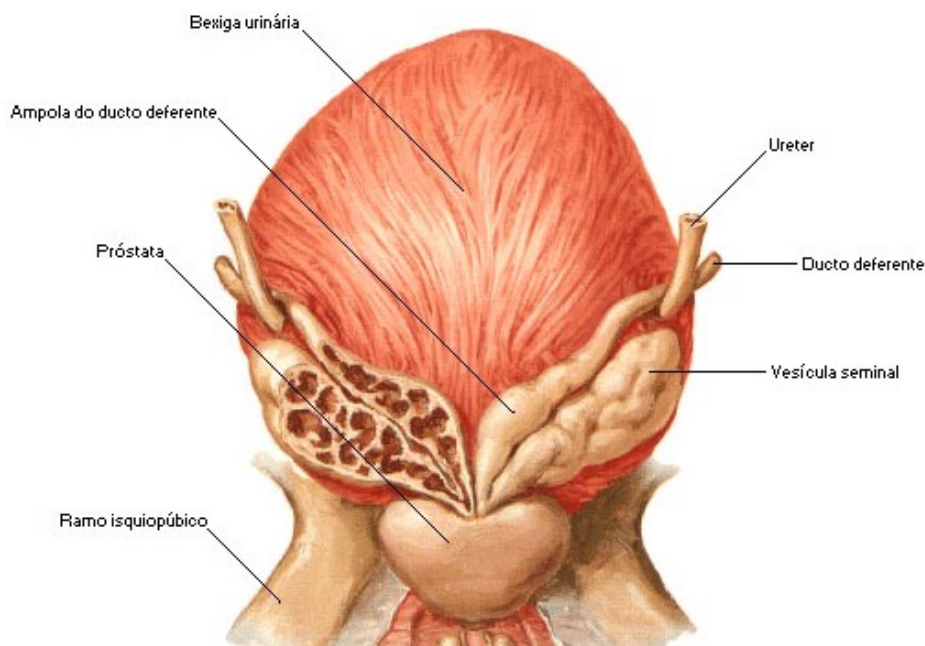


Figura 2: Localização posterior da próstata, bexiga e vesículas seminais (adaptada de Ovalle & Nahirney, 2013).

A próstata divide-se em quatro zonas anatómicas distintas, que possuem grande importância morfológica, funcional e anatómica. Das quatro zonas, três são compostas por tecido glandular, nomeadamente a zona de transição, a zona central e a zona periférica, e uma por tecido não glandular, a zona ou estroma fibromuscular anterior (Figura 3) (Fine & Mehra, 2015; Ovalle & Nahirney, 2013).

A zona de transição é responsável por 5 a 10% do volume da próstata normal, rodeia a uretra proximal e corresponde à zona onde a hiperplasia benigna prostática (HBP) se desenvolve (Shah & Zhou, 2012).

A zona central constitui aproximadamente 30% do volume da próstata normal e envolve os canais ejaculadores (Fine & Mehra, 2015).

A zona periférica representa cerca de 65% do volume da próstata normal, abrange a região posterior e lateral da próstata envolvendo a uretra prostática distal (Fine & Mehra, 2015). Esta zona apresenta a maior incidência de cancro da próstata (CP) (Ovalle & Nahirney, 2013).

O estroma fibromuscular anterior, composto por tecido muscular e fibroso, corresponde a 30% do tecido prostático total e preenche a face anterior da próstata entre as zonas periféricas (Hacking & Maingard, 2015; Muruve, 2013).

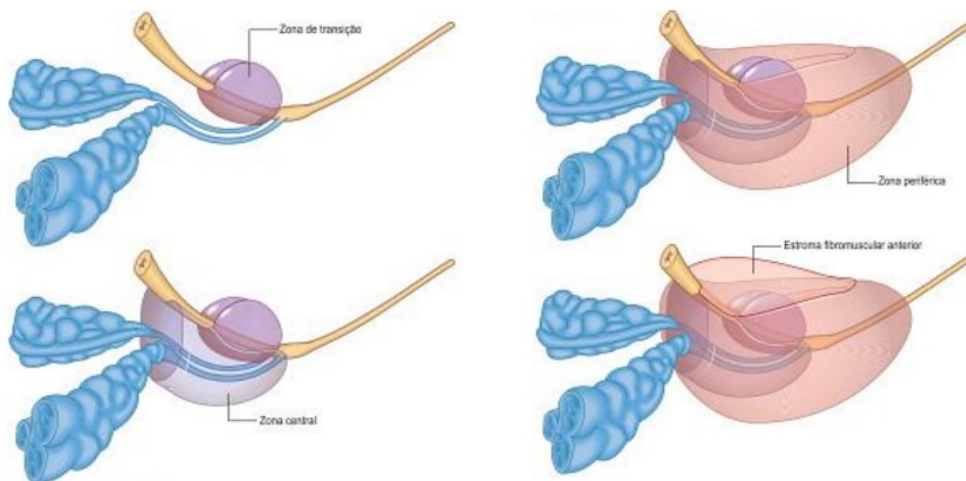


Figura 3: As quatro zonas anatômicas da próstata (adaptada de Standring et al., 2008).

O desenvolvimento e crescimento da próstata depende geralmente da existência de hormonas androgénicas, a testosterona, esta encontra-se na circulação sanguínea, sendo 90% produzida pelos testículos e a restante pelas glândulas supra-renais (Basu & Tindall, 2010).

A testosterona é transformada em dihidrotestosterona (DHT) na próstata, graças à 5- α -redutase, localizada na membrana nuclear. O androgénio mais potente é a DHT, este liga-se a recetores de androgénio (AR) e induz uma alteração na sua conformação. Essa alteração leva a uma translocação do AR para o núcleo e posterior transcrição de sequências de genes, denominadas de elementos de resposta aos androgénios (ARE), que permitem que o AR se ligue a genes alvo, regulando a síntese de proteínas que modulam a proliferação das células prostáticas (Morel & Baron, 2012; Wang & Tindall, 2011).

1.1.2 Histologia

Toda a próstata é revestida por uma densa cápsula de tecido conjuntivo, fortemente aderente à próstata, a cápsula prostática (Standring et al., 2008). A cápsula é composta por fibras de colagénio, de elastina e de músculo liso (Muruve, 2013).

A glândula prostática, um aglomerado de 30 a 50 glândulas tubuloalveolares compostas, distribuídas em três camadas distintas concêntricas, nomeadamente a mucosa, submucosa e principal. Cada glândula tubuloalveolar tem ductos próprios, que direcionam o produto de secreção na uretra prostática (Ovalle & Nahirney, 2013).

As glândulas da mucosa são as mais curtas, encontrando-se mais próximas da uretra. As submucosas, periféricas às glândulas da mucosa e mais longas do que estas. As glândulas

principais são as maiores, mais numerosas, mais periféricas e constituem o grosso da próstata (Gartner & Hiatt, 2006; Ovalle & Nahirney, 2013).

A próstata apresenta dois componentes, o epitélio glandular e o estroma fibromuscular. O estroma prostático é contínuo com a cápsula, divide o tecido fibromuscular da próstata em diversos lóbulos. Representa 30% da próstata, contém fibroblastos e células musculares com atividades contráteis, que ajudam a eliminar as secreções prostáticas para a uretra durante a ejaculação. O epitélio glandular representa 70% da próstata e é composto por três tipos de células, as secretoras, as basais e ainda as neuroendócrinas (Ovalle & Nahirney, 2013).

1.2 Doenças da Próstata

1.2.1 Prostatite

A prostatite trata-se do estado inflamatório e/ou infeccioso da glândula prostática, ou seja, descreve-se como uma combinação de doenças infecciosas (prostatite bacteriana aguda e crónica), um síndrome de dor pélvica crónica e ainda como uma inflamação assintomática (Murphy, Macejko, Taylor, & Nadler, 2009).

O Instituto Nacional de Saúde (NIH) dos Estados Unidos da América, de modo a facilitar a abordagem ao diagnóstico, estabeleceu uma classificação que distingue os vários tipos de prostatite, como se pode verificar na tabela 1.

Tabela 1: Classificação de acordo com o Instituto Nacional de Saúde (NIH) dos Estados Unidos da América para os vários tipos de prostatite (adaptada de Magistro et al., 2016).

Tipos	Nomenclatura
I	Prostatite bacteriana aguda
II	Prostatite bacteriana crónica
III	Prostatite crónica/Síndrome de dor pélvica (CP/CPPS)
IIIA	Prostatite crónica inflamatória
IIIB	Prostatite crónica não inflamatória
IV	Prostatite inflamatória assintomática

A prostatite bacteriana aguda (tipo I) e crónica (tipo II) são as mais fáceis de diagnosticar clinicamente. A prostatite não bacteriana crónica, CP/CPPS, afeta entre 10 a 15% dos homens (Sah et al., 2015).

Esta doença é considerada a infecção urinária mais comum em homens com idade inferior a 50 anos (Alshahrani, McGill, & Agarwal, 2013; Lee, Liong, Yuen, & Krieger, 2014). Em algum momento da vida, cerca de 8,2% dos homens podem vir a desenvolver prostatite, tratando-se da prevalência média da mesma (Murphy et al., 2009; Sah et al., 2015).

1.2.2 Hiperplasia Benigna Prostática

A hiperplasia benigna prostática (HBP) caracteriza-se por um aumento no número de células do epitélio e do estroma prostático, resultando numa alteração estrutural acompanhada por remodelação nodular da zona de transição e também da região periuretral da próstata. A hiperplasia afeta tanto o estroma como o parênquima glandular e causa aumento de tamanho da zona de transição (Riyach et al., 2014; Shah & Zhou, 2012).

A HBP consiste num tumor benigno, mais comum em homens com idade superior a 40 anos. A probabilidade de desenvolver esta patologia é diretamente proporcional ao aumento da idade, afetando cerca de 50% dos homens com mais de 60 anos e 80% dos homens com 80 anos (Abt et al., 2014; Shi et al., 2014).

Apesar de serem desconhecidas as causas exatas da HBP, existem fatores que podem estar na origem da mesma, nomeadamente a idade, aumento da testosterona, dieta e predisposição familiar (Dias, 2016b).

A testosterona é necessária para estimular o desenvolvimento e crescimento das células da próstata que são responsáveis pela HBP, uma vez que essa hiperplasia, ou aumento do volume prostático depende do androgénio mais potente, a dihidrotestosterona (DHT), metabolito da testosterona. Como foi referido anteriormente, a DHT liga-se a recetores de androgénio (AR) presentes no núcleo, de modo a promover a transcrição de sequências específicas de DNA, influenciando a síntese proteica e o aumento do número de células da próstata (Morel & Baron, 2012).

A HBP pode manifestar-se clinicamente com sintomas do trato urinário inferior (LUTS) devido ao aumento do volume da próstata, o que leva à compressão da bexiga e da uretra. Os LUTS são classificados de moderados a severos. Os moderados causam aumento do número de micções durante a noite (noctúria), aumento da frequência de micção (polaquiúria), esvaziamento incompleto da bexiga, urgência em urinar, diminuição da

força do fluxo urinário, entre outros. Os severos podem causar insuficiência renal, infeções urinárias recorrentes, obstrução urinária total ou hematuria macroscópica (Deters et al., 2015).

Os afro-americanos, em comparação com os caucasianos, possuem níveis mais elevados de testosterona, devido à maior atividade de 5- α -redutase e à expressão do recetor de androgénio que conduz a um aumento de hiperplasia prostática, sendo a HBP mais grave e progressiva neste grupo de indivíduos (Deters et al., 2015).

1.2.3 Cancro da Próstata

O cancro da próstata (CP) é um dos tumores malignos com maior incidência no género masculino, representando cerca de 15% de todos os tumores malignos que afetam o homem, sendo o segundo mais comum, a seguir ao carcinoma do pulmão (Ferlay et al., 2014; Reis, Ferraz, Varela, & Romão, 2006).

1.2.3.1 Epidemiologia

Estima-se que no ano de 2012, em todo o Mundo, tenham ocorrido cerca de 307.000 mortes nos homens devido a este cancro, representando a 5^a causa de morte por cancro no homem. Em Portugal, prevê-se uma mortalidade de 33 por 100.000 habitantes, representando a segunda maior causa de morte (Ferlay et al., 2014; Patrício, 2015).

A incidência do CP é muito maior nos países mais desenvolvidos, sendo que as regiões do mundo com maior taxa são a Oceânia e a América do Norte. Pelo contrário, os países do sul da Ásia e de África têm taxas de incidência menores para esta patologia, tendo em conta que não se realizam tantos diagnósticos como nos países mais desenvolvidos, os indivíduos acabam por falecer sem ter conhecimento da doença (Ferlay et al., 2014).

Na Europa, como se pode observar na figura 4, os países com maior incidência do CP são a França, Noruega, Finlândia e Suécia. Na Rússia, Polónia e Eslováquia a incidência é muito menor, segundo os dados da OMS de 2012 (World Health Organization, 2012).

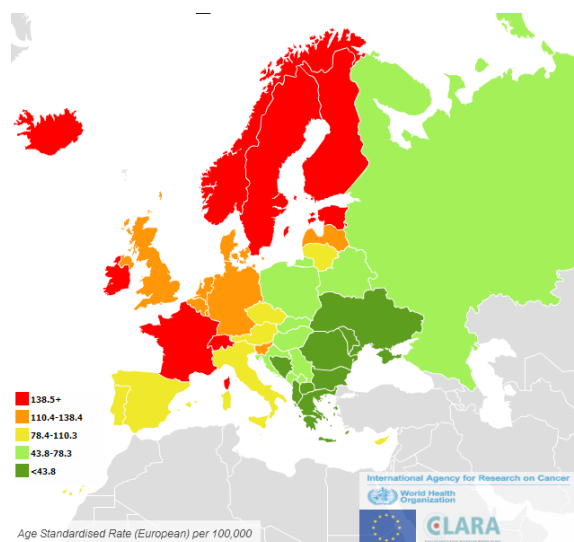


Figura 4: Incidência estimada do cancro da próstata nos homens (retirada de World Health Organization, 2012).

Na Europa, no ano de 2012 (figura 5), a taxa de mortalidade na Europa apresentou-se mais elevada na Suécia, Noruega, Estónia e Lituânia (World Health Organization, 2012).

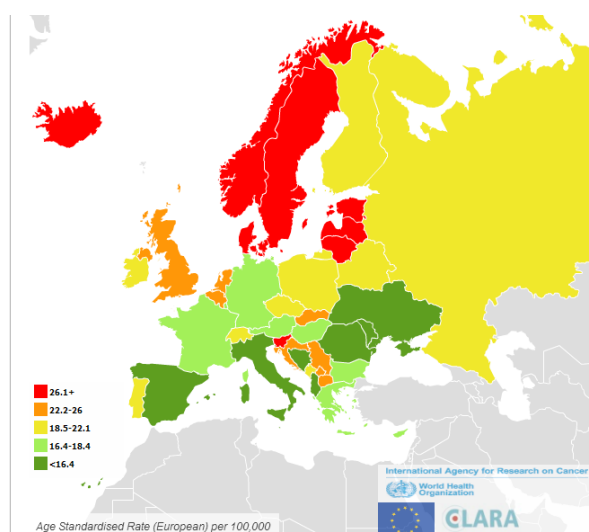


Figura 5: Mortalidade estimada do cancro da próstata nos homens (retirada de World Health Organization, 2012).

Tabela 2: Taxa de incidência de tumores malignos por patologia em Portugal, dados de 2007 (retirada de Direção-Geral da Saúde, 2013).

Taxa de Incidência de Tumores Malignos por Patologia (por 100.000)		
	Incidência Bruta	Incidência Padronizada
Estômago	27,20	19,60
Cólon	42,80	30,30
Reto	24,00	17,50
Mama Feminina	101,80	82,40
Traqueia, Brônquios e Pulmão	30,60	23,60
Próstata	114,00	89,70
Corpo do Útero	15,60	11,40
Colo do Útero	12,80	11,10
Bexiga	17,80	12,30
Linfomas não Hodgkins	15,70	11,40

Em Portugal (tabela 2), a taxa de incidência bruta deste tumor, no ano de 2007, foi de 114 por 100.000, a mais elevada quando comparada com outros tumores malignos (Direção-Geral da Saúde, 2013).

Tabela 3: Indicadores de mortalidade relativos ao tumor maligno da próstata, em Portugal Continental, no período de 2007 a 2011 (retirada de Direção-Geral da Saúde, 2013).

Tumor maligno da próstata					
	2007	2008	2009	2010	2011
Número de óbitos	1664	1967	1641	1720	1764
Taxa de mortalidade	34,5	35,2	34,1	35,7	36,8
Taxa de mortalidade padronizada	23,9	23,5	22,7	22,7	22,3
Taxa de mortalidade padronizada < 65 anos	1,9	1,9	2,0	2,2	1,6
Taxa de mortalidade padronizada ≥ 65 anos	201,8	198,5	189,6	188,5	189,8
Taxa de mortalidade padronizada < 70 anos	3,9	3,8	4,2	4,1	3,6
Taxa de mortalidade padronizada ≤ 70 anos	288,8	285,4	268,4	270,3	271,7

Com base nos dados apresentados na tabela 3, foi possível concluir que desde 2007 até 2011, o número de indivíduos afetados com o tumor maligno da próstata tem vindo a crescer com conseqüente aumento do número de óbitos por ano, levando assim a um aumento da taxa de mortalidade. Conclui-se ainda que a taxa de mortalidade tem valores mais elevados em doentes com idade superior a 65 anos (Direção-Geral da Saúde, 2013).

1.2.3.2 Fatores de risco

Como referido anteriormente, o principal fator de risco para o desenvolvimento do CP é a idade. Note-se que este tumor raramente é encontrado em indivíduos com menos de 40 anos e a sua incidência aumenta por cada década de vida. Existem também outros fatores de risco, como a dieta rica em ácidos gordos polinsaturados e predisposição familiar, que parecem estar associados ao desenvolvimento do CP (Bostwick et al., 2004).

Geograficamente, o CP é mais comum em regiões mais desenvolvidas, como a América do Norte, o Norte da Europa e a Austrália e menos comum na Ásia, África, América Central e América do Sul. Uma vez que os países mais desenvolvidos apresentam elevadas taxas de incidência deste tipo de tumor, estuda-se a provável relação deste com os hábitos de vida ocidentais, onde a dieta é rica em ácidos gordos polinsaturados e pobre em vegetais e fruta (American Cancer Society, 2015).

É de frisar que não só a dieta, como também o estilo de vida e fatores genéticos podem ser considerados fatores de risco que aumentam a suscetibilidade ao CP (Chen et al., 2015).

A maior ingestão de carnes vermelhas e o elevado consumo de laticínios, também poderão estar associados a um maior risco de CP (American Cancer Society, 2015). O consumo de laticínios pode contribuir para o aumento do risco de CP, através de uma maior ingestão de cálcio (Aune et al., 2015). Alguns estudos demonstraram que existe um aumento dos níveis de *Insulin-like Growth Factor I* (IGF-I) em circulação, com a ingestão de laticínios. O IGF-I promove a proliferação e inibe a apoptose das células prostáticas tumorais e normais *in vitro*, sendo considerado um fator de risco no desenvolvimento do CP (Aune et al., 2015).

A típica dieta ocidental à base de ingestão de carnes vermelhas ou processadas, peixe frito, batatas fritas e pão branco encontra-se associada ao aumento do risco de CP (Chen et al., 2015).

O elevado consumo de vegetais pode ser benéfico na redução do risco de cancro, incluindo o da próstata. O tomate contém licopeno em grande quantidade, molécula carotenóide identificada como agente antioxidante, que possui propriedades anticancerígenas e não apresenta efeitos adversos (Chen et al., 2015; Ilic, Forbes, & Hased, 2011). Outros micronutrientes identificados como agentes antioxidantes são a

vitamina E (α -tocoferol) e o selénio que oferecem proteção contra o CP. A vitamina E inibe a proliferação das células do CP através da apoptose, na qual a ingestão diária desta vitamina pode diminuir o risco de CP em 32%. O selénio é um oligoelemento essencial com alto poder antioxidante, que auxilia na prevenção do cancro e fortalecimento do sistema imunitário (Bostwick et al., 2004; Nicastro & Dunn, 2013; Vinceti et al., 2014).

O crescimento e a progressão do CP são fatores que podem ser afetados pela ação das hormonas, nomeadamente os androgénios. Ao longo dos anos, concentrações elevadas de testosterona e do seu metabolito DHT podem aumentar a suscetibilidade ao CP (Bostwick et al., 2004).

Relativamente às alterações epigenéticas, algumas destas são reversíveis como é o caso da metilação do DNA do gene *GSTP1* (gene que codifica para a enzima metabólica de fase II importante na desintoxicação de xenobióticos eletrófilos), que se trata de um novo alvo promissor para a terapêutica do CP. Fu, L. et al. (2014) demonstraram que o tratamento com licopeno (agente quimiopreventivo com ação antioxidante) apresenta uma função importante na metilação do DNA, provocando uma diminuição da metilação do gene *GSTP1* que reduz os níveis de *stress* oxidativo contribuindo para a redução da progressão do CP (Fu et al., 2014; Schnekenburger, Karius, & Diederich, 2014).

As alterações genéticas de genes de suscetibilidade hereditária podem aumentar a probabilidade de desenvolver CP, como por exemplo mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, que aumentam o risco de desenvolver cancro da mama e do ovário. Mutações germinativas nestes genes, principalmente no gene do cancro da mama de suscetibilidade 2 (*BRCA2*), encontram-se associadas ao desenvolvimento de tumores prostáticos hereditários (Castro & Eeles, 2012; Cavanagh & Rogers, 2015).

Genes supressores de tumores no cancro da próstata hereditário (*HPC*), nomeadamente o *HPC-1/RNASEL*, *HPC-2/ELAC2* e *MSR1*, foram também genes identificados como suscetíveis para o aparecimento do CP (Alvarez-Cubero et al., 2013; Beuten et al., 2010; Robbins et al., 2008).

Para além dos fatores descritos anteriormente, ainda é importante considerar a raça dos indivíduos, fatores ambientais e o tabagismo (Bostwick et al., 2004; Yadav, Kumar, & Rai, 2015).

A Raça dos indivíduos é considerada um fator de risco de CP, no entanto pode estar relacionada com outros fatores, nomeadamente a exposição a diferentes fatores exógenos, como diferenças na dieta e as diferenças genéticas, nomeadamente as frequências alélicas (fatores endógenos). A taxa de incidência do CP está presente nos indivíduos afro-americanos em maior quantidade do que nos restantes indivíduos norte-americanos (Bostwick et al., 2004; Kheirandish & Chinegwundoh, 2011).

O tabagismo consiste num fator de risco comum em vários cancros, no entanto a sua relação com a incidência de CP ainda não está totalmente esclarecida. Apesar do tabagismo não estar diretamente relacionado com o CP, alguns estudos revelam um aumento do risco entre fumadores, e consequentemente um aumento da taxa de mortalidade por CP. Este aumento pode dever-se ao facto do tabaco conter vários agentes cancerígenos e pelos fumadores apresentarem níveis elevados de testosterona, que pode aumentar o risco de CP ou contribuir para a progressão do cancro (Huncharek, Haddock, Reid, & Kupelnick, 2010; Islami, Moreira, Boffetta, & Freedland, 2014; Rohrmann et al., 2013).

1.2.3.3 Sintomatologia

Tal como referido anteriormente, o CP caracteriza-se por uma lenta evolução, o que retarda o tempo de aparecimento dos sintomas. Os sintomas têm origem devido ao aumento do tamanho da próstata que começa a interferir com o funcionamento da bexiga, pelo que estes sintomas se vão refletir em perturbações a nível da micção. A este nível os sintomas do doente podem manifestar-se através de:

- fluxo de urina diminuído ou com interrupções;
- vontade súbita de urinar;
- micção frequente, principalmente à noite;
- problemas para iniciar o fluxo de urina;
- dificuldade em esvaziar completamente a bexiga;
- dor ou ardor ao urinar;

Com a evolução da doença os sintomas começam a agravar-se, tornando mais frequentes as seguintes manifestações:

- hematúria ou hematoespermia;
- dor nas costas, quadris ou pélvis persistente;

- anemia;
- disfunção erétil;
- ejaculação dolorosa;

Quando o doente apresenta alguma das manifestações referidas anteriormente deve recorrer ao médico, o qual o encaminha para a realização de testes de diagnóstico de modo a despistar a doença (National Cancer Institute, 2012; Sousa & Lopes, 2007).

1.2.3.4 Classificação de Gleason

A classificação dos tumores da próstata realiza-se através da classificação de Gleason. Esta baseia-se nos padrões histológicos do crescimento tumoral, utilizando cinco graus de classificação (Anexo 1) (Durães et al., 2013; Fine et al., 2012; Prostate Cancer Foundation, 2015).

Após a análise histológica da biópsia ou da peça cirúrgica atribui-se um grau de Gleason de acordo com o padrão mais predominante e um segundo grau de acordo com o segundo padrão mais predominante na biópsia. De seguida, é feito o somatório da classificação de cada padrão e atribuído um número de classificação de Gleason final que indica o estágio da doença (Durães et al., 2013; Fine et al., 2012; Prostate Cancer Foundation, 2015).

Em geral, as células tumorais de “baixo grau” aproximam-se do padrão histológico 1 da classificação de Gleason e assemelham-se às células normais, quando a classificação se aproxima de 5 são consideradas células tumorais de “elevado grau”, estas não apresentam qualquer semelhança com as células normais (Durães et al., 2013; Fine et al., 2012; Prostate Cancer Foundation, 2015).

1.2.3.5 Estadiamento tumoral

O estadiamento tumoral tem como objetivo descrever a gravidade do cancro para cada indivíduo, baseando-se no tamanho, localização e extensão do tumor inicial, de modo a facilitar a escolha do tratamento mais adequado a cada situação. A classificação utilizada internacionalmente designa-se por TNM (Tumor primário, Gânglios e Metástases), em relação ao tumor é necessário defini-lo quanto à sua extensão e tamanho, determinar o número de gânglios linfáticos atingidos e ainda a verificação da existência de metástases (Anexo 2). No entanto, a determinação do estágio da doença necessita de outros fatores adicionais como: a classificação de Gleason, os valores de PSA e toque rectal (Dias, 2016a; Durães et al., 2013; Prostate Cancer Foundation, 2015).

2. Mecanismos de carcinogénese no Cancro da Próstata

Os mecanismos moleculares envolvidos na carcinogénese do CP ainda não são totalmente conhecidos, podendo dever-se a fatores genéticos, hormonais ou inflamatórios (Correa & Pow-Sang, 2010).

Vários estudos têm demonstrado uma relação entre o CP e a inflamação da mesma. Pensa-se que a exposição a fatores ambientais, como agentes infecciosos, substâncias cancerígenas alimentares e desequilíbrios hormonais, podem levar à lesão da próstata e ao desenvolvimento da inflamação crónica, que se caracteriza como atrofia inflamatória proliferativa (PIA) da próstata, que serve de “precursor” para a neoplasia intraepitelial prostática (PIN) e para o CP (Correa & Pow-Sang, 2010; De Marzo et al., 2007).

O CP desenvolve-se a partir de uma lesão precursora, de elevado grau de neoplasia intraepitelial prostática (HGPIN), que geralmente se caracteriza por diferenciação e proliferação celular inapropriada, onde a sobrevivência das células epiteliais glandulares podem levar ao carcinoma invasivo. O carcinoma invasivo pode progredir localmente ou para metástase, deste modo quando ocorre metástase, o prognóstico da doença tende a agravar (Shukla, Bhaskaran, MacLennan, & Gupta, 2013).

2.1. Mutações germinativas

Relativamente às alterações genéticas, estas surgem com o aparecimento de PIA na próstata, caso não sejam consideradas as mutações germinativas de genes como *RNASEL* (enzima ribonuclease L, codificada pelo gene *HPC-1* que corresponde ao primeiro *locus* de CP reportado, permitindo prever o risco de CP em famílias com elevado risco de desenvolver a doença), ou ainda de genes como *MSRI* (este gene está localizado no braço curto (p) do cromossoma 8p22, uma área associada à perda de alelos no CP) (Correa & Pow-Sang, 2010; J Xu et al., 2001; Jianfeng Xu et al., 2002).

As células epiteliais das lesões de PIA aparentam estar sob uma enorme tensão, uma vez que expressam elevados níveis de proteínas de resposta ao *stress* oxidativo, tais como COX2, GSTA1 e GSTP1 (De Marzo et al., 2007; Parsons et al., 2001; Zha et al., 2001).

Este tipo de cancro, tal como outros tipos, desenvolve-se através da acumulação de alterações genéticas e epigenéticas somáticas, resultando na inativação de genes supressores de tumores e genes guarda, e ainda na ativação de oncogenes (tabela 4) (De Marzo et al., 2007).

Tabela 4: Alterações genéticas e epigenéticas somáticas comuns no CP (adaptada de De Marzo et al., 2007).

Marcador genético	Localização
Genes guarda	
<i>GSTP1</i>	11q13
Disfunção dos telómeros	Cromossómica terminal
Genes supressores de tumor	
<i>CDKN1B</i>	12p12-13
<i>NKX3.1</i>	8p21.2
<i>PTEN</i>	10q23.31
<i>TP53</i>	17p13.1
<i>Rb</i>	13q
<i>FOXO1A</i>	13q
<i>CDHI</i>	16q22.1
Oncogenes	
<i>c-Myc</i>	8q24
<i>ERG</i>	21q22.3
<i>ETV1-4</i>	7p21.2, 19q13.12, 1q21,-q23, 17q21.31
<i>AR</i>	Xq11-12
Ativação da enzima telomerase	
Outras alterações somáticas	
<i>PTGS2, APC, MDRI, EDNRB, RASSF1 α, RAR β 2</i>	Variada

2.2. Hipermetilação das ilhas CpG – *GSTP1*

O DNA no cancro pode apresentar várias alterações somáticas, como mutações, deleções, ampliações, translocações e ainda hipermetilações das ilhas CpG que afetam a função de genes (Meiers, Shanks, & Bostwick, 2007).

A hipermetilação das ilhas CpG da região promotora do gene *GSTP1*, que por sua vez codifica a glutathione S-transferase (GST) da classe π , corresponde à alteração genética mais frequente no CP (Nakayama et al., 2004; Schneckengerber et al., 2014).

Durante o desenvolvimento do CP, o gene *GSTP1* não funciona nem como oncogene, nem como gene supressor do tumor, deste modo *GSTP1* atua como gene guarda (Meiers et al., 2007).

A inativação de *GSTP1* através da hipermetilação das ilhas CpG, provoca um aumento do número de danos acumulados por *stress* oxidativo (Lin et al., 2001; Schneckengerber et al., 2014).

A hipermetilação da região promotora de *GSTP1* restringe-se às células malignas, que inclui as células do CP, bem como as da PIN. Por outro lado a região promotora de *GSTP1* apresenta uma menor metilação nas lesões benignas, distinguindo assim as transformações benignas das malignas. A deteção da metilação de *GSTP1* em fluidos corporais de pacientes com CP (como por exemplo: urina) representa um biomarcador epigenético que se encontra em estudo, para a aplicação de novos métodos de diagnóstico (Cairns et al., 2001; Esteller, 2008; Hopkins, Burns, & Routledge, 2007; Schneckengerber et al., 2014; Yang & Park, 2012).

2.3. Disfunção dos telómeros

Uma das alterações no genoma mais frequente e com referências mais antigas do CP, é o encurtamento do telómero. Os telómeros correspondem a sequências repetidas, que se encontram nas extremidades de cromossomas e protegem contra a perda e recombinação cromossómica durante a replicação, estando significativamente reduzidos em lesões de PIN e de CP. A instabilidade cromossómica na fase inicial da carcinogénese da próstata pode dever-se à disfunção dos telómeros, levando à progressão do cancro (Meeker et al., 2002).

As anomalias cromossómicas mais comuns que ocorrem no CP, correspondem à amplificação cromossómica em 7p, 7q, 8q e Xq, e à perda no 8p, 10q, 13q e 16q. O

envolvimento de várias alterações genómicas e mudanças de expressão em genes específicos dentro destas regiões cromossómicas estão na base da progressão deste tipo de cancro (Nelson, De Marzo, & Isaacs, 2003).

2.4. Amplificações no 8q

Em relação à amplificação do braço longo (q) do cromossoma 8 é comum no CP, especialmente em estádios mais avançados da doença (metastáticos). O gene *c-Myc* trata-se de um oncogene, que pertence à família de genes *Myc* que inclui os genes *N-Myc* e *L-Myc*, localiza-se no cromossoma 8q24, é composto por três exões e a proteína codificada por este gene encontra-se envolvida na diferenciação, apoptose e proliferação celular (Dang, 1999; De Marzo et al., 2007; Miller, Thomas, Islam, Muench, & Sedoris, 2012).

Pensa-se que *c-Myc* regula a expressão de 10-15% de todos os genes envolvidos numa ampla variedade de funções celulares. Nas células normais, a expressão da proteína *c-Myc* é fortemente controlada, o mesmo não acontecendo na maioria dos tumores, uma vez que *c-Myc* contribui para a transformação maligna, através de vários processos como a proliferação descontrolada de células e a instabilidade genómica. Esta proteína promove o crescimento celular através da ativação de genes envolvidos na biogénese ribossomal e mitocondrial, na regulação da glicólise, no metabolismo de glutamina e na síntese de lípidos (Wahlström & Arsenian Henriksson, 2015).

As alterações no cromossoma 8q24 da região de *c-Myc* têm sido associadas à agressividade da doença. No entanto, estudos realizados em tecidos humanos indicaram que a sobre-expressão da proteína *c-Myc* ocorre nas primeiras fases de PIN e do CP, revelando que esta contribui para a iniciação e progressão da doença. Uma vez que a amplificação do braço longo (q) do cromossoma 8 é comum principalmente em CP metastáticos, a sobre-expressão deste gene pode não estar associada à amplificação da região 8q24 (Gurel et al., 2008; Koh et al., 2010).

Algumas evidências sugerem que a ativação da expressão do gene *c-Myc* é essencial para a transdução de sinal através da proteína polipose adenomatosa coli (APC), esta atua como um gene supressor de tumor, que regula negativamente a β -catenina. A β -catenina é um co-ativador do fator de transcrição Tcf, que é capaz de ativar diretamente a expressão de *c-Myc*, quando a APC é inativada (Dang, 1999; Koh et al., 2010).

Durante a carcinogénese prostática, ocorre uma elevada expressão de *c-Myc* que é detetável em células que expressam o AR. A ativação do AR nas células prostáticas neoplásicas promove a expressão do gene *c-Myc*, o que não acontece com as células prostáticas normais em que a expressão de *c-Myc* não é detetável pelas células do AR (Gurel et al., 2008; Vander Griend, Litvinov, & Isaacs, 2014).

2.5. Diminuição da expressão *NKX3.1*

O gene *NKX3.1* localiza-se no 8p21.2, é um gene supressor de tumor, regulado por androgénios na próstata, considerando-se um gene androgénio-dependente específico da próstata. Este gene desempenha um papel significativo na proteção contra danos no DNA e promove a reparação desses danos, através da regulação do gene *ATM*. A ataxia telangiectasia mutada (*ATM*) é uma das três proteínas cinase, que medeia uma resposta aos danos no DNA, sendo ativado na presença destes (Bhatia-Gaur et al., 1999; Cai Bowen, Ju, Lee, Paull, & Gelmann, 2013; Gurel et al., 2010; Padmanabhan, Rao, De Marzo, & Bieberich, 2016).

Uma vez que se trata de um gene supressor de tumor, quando ocorre a perda de um único alelo pode ser o suficiente para levar à carcinogénese da próstata (Bhatia-Gaur et al., 1999).

O gene *NKX3.1* é essencial para a função normal e morfogénese da próstata, mas a sua inativação promove a hiperplasia e displasia epitelial prostática, aumentando a sua gravidade consoante a idade (Bhatia-Gaur et al., 1999).

A diminuição da expressão do gene *NKX3.1*, verifica-se em lesões pré-malignas, PIN e em regiões de atrofia inflamatória e de prostatite bacteriana, que promove a formação do CP. Essa diminuição leva a um aumento dos danos oxidativos nas células prostáticas, caso o *stress* oxidativo seja a principal causa de dano no DNA, a *ATM* pode desempenhar um papel importante na proteção das células epiteliais prostáticas, uma vez que é ativada pelo *stress* oxidativo (Cai Bowen et al., 2013; Martinez et al., 2014).

2.6. Fusão genética *TMPRSS2-ERG*

Alguns eventos moleculares precoces que ocorrem no CP, abrangem tanto a perda de expressão de *NKX3.1*, como o rearranjo cromossómico envolvendo membros da família de genes de fatores de transcrição *ETS*, nomeadamente o *ERG* (localizado no cromossoma

21q22.3), o *ETV1* (localizado em 7p21.2) e o *ETV4* (localizado em 17q21) (C. Bowen, Zheng, & Gelmann, 2015; Perner, Schmidt, Hofer, Kuefer, & Rubin, 2007).

O rearranjo cromossómico resulta da fusão do gene *TMPRSS2* regulado por androgénios, que é específico da próstata e codifica uma serina protease nas células secretoras, com o gene de fator de transcrição *ERG*, ambos situados na mesma região cromossómica, esta fusão é a mais frequente nos CP (Cerveira et al., 2006; Mosquera et al., 2009; Thangapazham et al., 2014).

A perda de expressão de *NKX3.1* conduz à ativação do proto-oncogene *ERG*, levando ao aumento da expressão de *ERG*, que ativa o *c-Myc* nas células do CP e assim favorece a carcinogénese da próstata. O gene *NKX3.1* regula negativamente a expressão do proto-oncogene *ERG* e, conseqüentemente, o gene *TMPRSS2-ERG* (Thangapazham et al., 2014).

Uma vez que a fusão do gene *TMPRSS2-ERG* tem vindo a revelar uma grande evolução clínica nos últimos tempos, vários estudos demonstram que esta pode ter um papel importante na transformação do epitélio da próstata, sendo considerada como um alvo para a intervenção terapêutica ou diagnóstico, apoiando a sua utilização como biomarcador do CP, através de testes realizados em urina em conjunto com o *prostate cancer antigen 3* (PCA3), primeiro biomarcador urinário para o CP (Hessels & Schalken, 2013; Perner et al., 2007; Thangapazham et al., 2014; Wei, 2015).

2.7. Perda de função do *PTEN*

Na progressão do CP é comum a existência de alterações genéticas somáticas como a perda de alelos não só de *NKX3.1*, como também de *PTEN*, promovendo a proliferação anormal das células da próstata (Nelson et al., 2003).

O gene *PTEN* correspondente a um gene supressor de tumor, situa-se no cromossoma 10q23.3 e codifica uma fosfatase que inibe a via de sinalização fosfatidilinositol 3'-cinase/Akt (PI3K/Akt), essencial para a progressão do ciclo celular e sobrevivência (Gonzalvo & Isaacs, 2003; Nakamura et al., 2000; Nelson et al., 2003).

O *PTEN* encontra-se presente em células epiteliais prostáticas normais e em células em neoplasia prostática. A perda de expressão do *PTEN*, tal como outras alterações genéticas do gene *PTEN* são mais comuns em CP metastáticos do que em primários. As alterações genéticas no *PTEN* podem ocorrer devido, nomeadamente a mutações, deleções

homozigóticas, perda de heterozigotia e à hipermetilação das ilhas CpG, diminuindo a expressão e/ou função de *PTEN* (Nelson et al., 2003).

2.8. Perda de função do *CDKN1B*

Tal como o gene *NKX3.1* e o *PTEN*, o *CDKN1B* também é considerado um gene supressor de tumor. Estes genes apresentam expressão diminuída ou ausente no CP e PIN, e expressão elevada no epitélio normal da próstata (De Marzo et al., 2007).

O gene *CDKN1B*, localizado no cromossoma 12p12-13, codifica p27, um inibidor de cinase dependente de ciclina, a proteína codificada regula a progressão do ciclo celular de G1 para a fase S, ao ligar-se impede a ativação do complexo ciclina E - CDK2 (Chu, Hengst, & Slingerland, 2008; Gonzalzo & Isaacs, 2003).

A via de sinalização PI3K/Akt suprime os níveis de p27, no entanto se PI3K/Akt for inibido, os níveis de mRNA da proteína p27, podem ser aumentados pelo fator de transcrição *PTEN* (Nelson et al., 2003). Deste modo, a diminuição dos níveis de p27, pode tratar-se de uma consequência da perda de função do *PTEN* ou de alterações em *CDKN1B* (Gonzalzo & Isaacs, 2003; Nakamura et al., 2000; Nelson et al., 2003).

2.9. Perda de função do *Rb*

Como foi referido anteriormente, para além da perda de porções dos 8p, 10q, também ocorre perda de porções do 13q e 16q. Existem vários genes localizados no 13q, entre eles o *Retinoblastoma (Rb)*, este gene supressor de tumores encontra-se envolvido no desenvolvimento do CP. Alguns estudos referem que a perda de expressão e as mutações em *Rb*, têm estado presentes em cerca de 20% a 50% no CP (Gonzalzo & Isaacs, 2003).

Para além disso, num estudo realizado por Tan, H. et al. (2014) observou-se que a perda de função da proteína Rb foi encontrada em 90% dos tumores neuroendócrinos de células pequenas prostáticas (Tan et al., 2014).

2.10. Perda de função do *FOXO1A*

O gene *FOXO1A* também se encontra situado no cromossoma 13q, é um gene supressor de tumor, pertence ao grupo de fatores de transcrição classe “O”, *forkhead box, class “O”* (FOXO), que desempenham um papel importante no controlo do ciclo celular, diferenciação, resposta ao *stress* e apoptose. Este gene trata-se de um fator de transcrição que por sua vez inibe a regulação mediada por androgénios e por AR, sendo inativado

pela fosforilação mediada pela via de sinalização PI3K/Akt. Embora o gene *FOXO3A* também se encontre sobre-expresso durante as fases iniciais do CP, não existe relação entre a sua desregulação e a progressão do tumor, apesar da sobre-expressão de *FOXO3A* e *FOXO1A* em células de CP, provocar apoptose e induzir a expressão de genes que afetam a proliferação celular (Dong, 2006; Shukla et al., 2013; Shukla, Shukla, MacLennan, Fu, & Gupta, 2009). A perda de *FOXO1A* através da deleção cromossômica (13q14), promove a independência de androgénio em células do CP (Dong, 2006).

2.11. Perda de função do *CDH1*

Relativamente ao gene *CDH1*, também conhecido como *E-caderina*, está localizado na região cromossômica 16q22.1. Este gene supressor de tumor codifica uma glicoproteína de adesão, que medeia a adesão célula-célula, ajudando a estabelecer e a manter a polaridade celular e arquitetura dos tecidos. A expressão de *CDH1* é reduzida ou ausente em CP pouco diferenciados. A diminuição da expressão de *E-caderina* no CP, encontra-se relacionada com o aumento do grau e com uma evolução clínica mais severa, onde também existe menor expressão de *E-caderina*, por sua vez em metástases do que em tumores primários (Dahiya, 2006; Ikonen et al., 2001).

2.12. Amplificação de porções do cromossoma 7

Como foi referido anteriormente, uma das anomalias cromossômicas mais comuns, consiste na amplificação de porções do cromossoma 7 (Bostwick et al., 2004).

Neste cromossoma encontra-se localizado o gene *EZH2*, cuja expressão se encontra aumentada no desenvolvimento metastático do CP (Shen, Cui, Liang, Pang, & Liu, 2013). Este gene localiza-se na região cromossômica 7q35 e codifica para uma subunidade enzimática do complexo PRC2, sendo um gene essencial para a iniciação do cancro, desenvolvimento, progressão, metástase e ainda confere resistência a medicamentos (Bachmann et al., 2005; Ren et al., 2012; Shin & Kim, 2012; Yamaguchi & Hung, 2014).

Deste modo, considera-se este gene um alvo terapêutico promissor e, como tal, têm sido desenvolvidos vários inibidores de *EZH2*, de forma a serem capazes de regular negativamente *EZH2* e assim ocorrer um bloqueio da atividade de *EZH2*, o que pode bloquear o crescimento do tumor (Yamaguchi & Hung, 2014).

2.13. Amplificação de porções do cromossoma Xq e Mutação do *AR*

Na amplificação de porções do cromossoma X, o gene afetado é o gene do recetor de androgénios (*AR*). Geralmente não se consegue controlar a progressão do CP metastático, devido ao aparecimento de células androgénio-independentes, mesmo que se trate o CP metastático com a terapêutica de privação dos androgénios, ou em combinação com anti-androgénios numa fase inicial (Nelson et al., 2003; Saraon, Jarvi, & Diamandis, 2011).

Existem alterações no gene *AR*, como é o caso da amplificação, que pode levar ao aumento da expressão do *AR* e conseqüentemente ao aumento da sua via de sinalização. Este aumento de expressão do *AR* parece ajudar as células tumorais a sobreviverem e a continuarem a sua proliferação, mesmo com baixas concentrações de androgénios (Saraon et al., 2011). Outra alteração que ocorre no gene *AR* corresponde à perda de função do gene e resulta no aparecimento de células androgénio-independentes. A mutação *missense* do codão 877, consiste na substituição de treonina por alanina, o que diminui a especificidade do recetor para o ligando, permitindo que outras hormonas como o estrogénio, progesterona e anti-androgénios ativem a proteína *AR*. Pensa-se que a ocorrência de mutações neste gene apresenta maior prevalência em CP metastáticos (Saraon et al., 2011).

2.14. Mutação do *TP53*

Apesar da enorme diversidade de genes que se encontram envolvidos na carcinogénese, um dos genes mais estudados é o *TP53* (gene que codifica para uma proteína supressora de tumor, a p53), apresentando alterações genéticas mais comumente associadas à carcinogénese humana. Este gene supressor de tumor desempenha uma ação fulcral na regulação do ciclo celular, de modo a garantir a integridade do DNA, inibindo a proliferação celular após o dano do DNA (Dahiya, 2006; Ecke et al., 2010; Rivlin, Brosh, Oren, & Rotter, 2011).

As mutações e perda de heterozigotia neste gene ocorrem no cromossoma 17p13.1 em CP mais agressivos e que apresentem um maior risco de recidividade, sendo incomuns em fases iniciais do tumor. As mutações no gene *TP53* afetam a ativação da proliferação celular, a supressão da reparação dos danos do DNA e a indução de apoptose (Dahiya, 2006; Ecke et al., 2010).

Mutações neste gene estão relacionadas com o aceleração da progressão do CP e com o crescimento de células independentes de androgénios, uma vez que comprometem a

capacidade das células tumorais sofrerem apoptose em resposta à instabilidade genética, promovendo a acumulação de mutações, não só no gene *TP53* como também no *AR*, responsáveis pela independência de androgénio nos CP (Cronauer, Schulz, Burchardt, Ackermann, & Burchardt, 2004; Ecke et al., 2010).

Contudo, como as células perdem a capacidade de entrar em senescência ou de induzir a apoptose devido as mutações que ocorrem neste gene, é importante utilizar terapêuticas que consigam conduzir à indução de apoptose ou senescência dentro das células cancerosas. A presença de mutações no *TP53* em estádios de desenvolvimento do tumor mais avançados fazem com que as células se tornem mais resistentes a tratamentos de radioterapia e quimioterapia (Chappell et al., 2012).

3. Biomarcadores do Cancro da Próstata

Os biomarcadores podem ser proteínas, metabolitos, RNA, DNA, ou até alterações epigenéticas de DNA, detetados através de amostras de tecido de pacientes, obtidos de forma invasiva ou não invasiva. Pela forma invasiva, pode realizar-se por biópsia ou ressecção cirúrgica, já pela não invasiva, utiliza-se o isolamento de células a partir de fluidos corporais, como o sangue ou urina (Endzeliņš et al., 2016; Prensner, Rubin, Wei, & Chinnaiyan, 2012).

Desde a primeira utilização do antigénio específico da próstata (PSA) como biomarcador, que este tem sido fundamental não só no rastreio do CP, como também no controlo da eficácia da terapêutica. Apesar do uso deste biomarcador demonstrar elevada previsão para o CP, o aumento do nível de PSA no sangue também pode estar associado a casos de prostatite ou HBP, apresentando assim uma baixa especificidade para o CP (Hessels & Schalken, 2013; Wei, 2015).

3.1. Biomarcadores no sangue e na urina

O PSA corresponde a um teste de diagnóstico não invasivo mais utilizado para o CP, que leva a uma deteção mais precoce. Um aumento do nível de PSA, na realidade desencadeia a realização de um teste mais específico de confirmação, a biópsia da próstata, uma vez que se trata de um teste invasivo, pode acarretar algumas complicações para o doente, nomeadamente infecciosas (Hessels & Schalken, 2013; Wei, 2015).

Dado o desconforto e as complicações que os homens podem vir a ter quando submetidos a uma biópsia estudou-se uma alternativa complementar ao PSA, que consiste na deteção de novos biomarcadores que fornecem informações suplementares, para uma deteção precoce do cancro (Hessels & Schalken, 2013; Tosoian, Ross, Sokoll, Partin, & Pavlovich, 2016; Wei, 2015).

Graças aos avanços tecnológicos, vários biomarcadores têm sido identificados e podem ser detetados em fluidos corporais como a urina, a fim de conferir uma maior sensibilidade e especificidade para a deteção do CP (Cao & Yao, 2010; Tosoian et al., 2016; Wei, 2015).

De acordo com as guidelines da *European Association of Urology* (EAU), deve realizar-se o rastreio, através da realização do teste de PSA, a indivíduos assintomáticos com mais de 50 anos, ou com mais de 45 anos e com história familiar de CP. Também se recomenda

o rastreio a homens que apresentem um nível de PSA > 1 ng/ml aos 40 anos e com um nível de PSA > 2ng/ml aos 60 anos (Mottet et al., 2015).

Ainda não se conhecem os intervalos de tempo ideais para a realização do teste de rastreio e respetivo *follow-up*. Contudo, importa ter em conta os grupos de risco e o nível inicial de PSA, por exemplo em homens que se encontrem inicialmente em risco, este teste deverá ser realizado 2 em 2 anos, em casos que não o apresentem pode ser adiado até 8 anos (níveis de PSA inferiores a 1 ng/ml) (Mottet et al., 2015).

Por outro lado, um nível de PSA < 1 ng/ml antes dos 60 anos, prevê uma rara existência de metástases e baixa mortalidade causada por CP, assim conclui-se que existe uma maior probabilidade de ter CP caso ocorra um aumento da concentração de PSA (Vickers et al., 2010).

Muitas vezes podem ocorrer alterações na expressão de genes, estas modificações epigenéticas incluem alterações como a metilação do DNA, onde zonas promotoras de genes possuem regiões conhecidas por ilhas CpG (Hessels & Schalken, 2013).

Foram observadas mudanças nos padrões de metilação do DNA em alguns tipos de cancro, o que indica que a metilação do DNA pode servir como um marcador na deteção do risco de desenvolver cancro (Hessels & Schalken, 2013).

Genes que exibem grande percentagem de metilação dos seus nucleótidos (hipermetilados) têm sido correlacionados com o desenvolvimento do CP, como é o caso do *GSTP1*, que devido a alterações epigenéticas, a proteína codificada por este gene guarda perde a sua capacidade de desintoxicação celular, por consequência, leva ao aumento do risco de desenvolvimento do cancro. Assim sendo, a diminuição da capacidade de desintoxicação celular, leva ao aumento do *stress* genotóxico e acumulação progressiva de alterações genéticas adicionais, que desencadeia um aumento da taxa de proliferação. Visto que a epimutação deste gene surge numa fase inicial dos CP, a análise da metilação do DNA do promotor *GSTP1* em fluidos corporais, permite detetar a hipermetilação das ilhas CpG, transformando este mecanismo molecular num biomarcador precoce do cancro, como se pode observar na figura 6 (Schnekenburger et al., 2014).

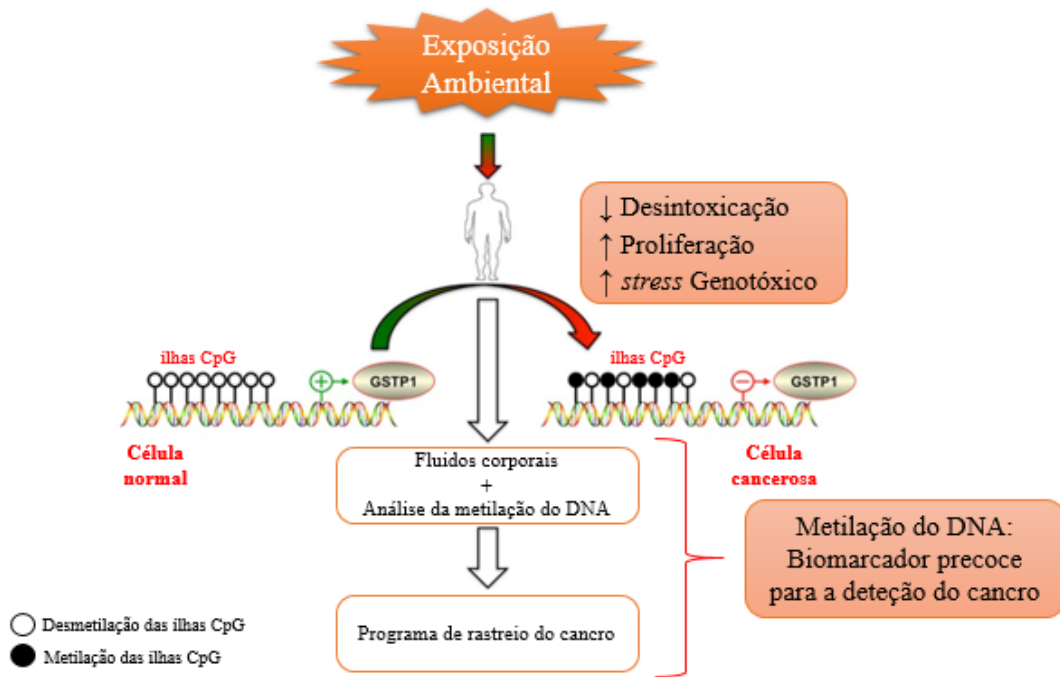


Figura 6: Mecanismo molecular de hipermetilação das ilhas CpG da região promotora do gene *GSTP1* como biomarcador precoce do cancro (adaptada de Schnekenburger et al., 2014).

A hipermetilação de *GSTP1* tem sido detetada em mais de 90% dos tumores da próstata, o mesmo não se observa em tecidos prostáticos normais, nem em amostras de HBP, assim sendo a hipermetilação de *GSTP1* poderá estar restrita às células malignas, incluindo em células do CP e de PIN, tornando este biomarcador mais específico para o CP (Hessels & Schalken, 2013; Schnekenburger et al., 2014).

Outro gene hipermetilado em CP é o *RASSF1A*, classificado como um gene supressor de tumor. A perda de expressão deste gene resulta principalmente da hipermetilação das ilhas CpG na sua região promotora, sendo este fenótipo frequente no CP primário (Donninger, Vos, & Clark, 2007; Hessels & Schalken, 2013).

Tal como observado para o gene *GSTP1*, a hipermetilação neste gene raramente ocorre nos tecidos prostáticos normais, sendo observada entre 60% a 74% dos CP e em 18,5% em amostras de HBP. Para além disso, a frequência da hipermetilação encontra-se associada a um grau elevado de desenvolvimento do tumor, de acordo com a classificação de Gleason e estadiamento. Deste modo pensa-se que a hipermetilação de *RASSF1A* possa distinguir a agressividade dos cancros. Assim sendo, também se pode considerar *RASSF1A* um candidato a biomarcador para o diagnóstico do tumor da próstata (Hessels & Schalken, 2013).

A hipermetilação de certas regiões do DNA poderá ser altamente específica para determinados tipos de cancro, onde genes hipermetilados podem integrar uma nova geração de biomarcadores, utilizando fluidos corporais como a urina. No entanto, é necessário ter em conta que, antes da utilização clínica dos mesmos, estes necessitam de mais estudos que validem esta afirmação (Hessels & Schalken, 2013).

O lncRNA PCA3 (*antigénio do cancro da próstata 3*), um RNA não codificante longo, consiste num biomarcador que apresenta uma taxa de incidência superior a 90% dos casos de CP, ao contrário do que se verifica em tecidos normais ou com HBP. A alta sensibilidade e especificidade deste biomarcador ao nível dos tecidos, levou ao desenvolvimento de várias formas de detetar este RNA em amostras de urina, onde a sua combinação com a análise do valor de PSA, melhora o diagnóstico do CP, principalmente em casos que apresentem biópsia prévia negativa (Prensner et al., 2012; Wei, 2015).

Outro biomarcador que pode ser utilizado em associação com a deteção de PCA3, consiste na deteção do mRNA do gene *TMPRSS2-ERG*, sendo detetado em cerca de 50% dos casos de pacientes com CP (Prensner et al., 2012; Tomlins et al., 2011; Wei, 2015). De modo a melhorar a monitorização dos níveis de PSA sérico, utilizou-se com sucesso, a conjugação do PCA3 com *TMPRSS2-ERG*, uma vez que a presença de níveis elevados de *TMPRSS2-ERG* na urina em doentes que apresentam PSA sérico elevado pode indicar que se trata de um tipo de cancro mais agressivo (Hessels & Schalken, 2013; Tomlins et al., 2011).

Utilizando técnicas de deteção de mRNA é ainda possível identificar outro biomarcador, o AMACR, que codifica para uma enzima que desempenha um papel importante na β -oxidação peroxissomal de moléculas de ácidos gordos de cadeia ramificada a partir de lacticínios e de carne. O consumo de lacticínios e de carnes vermelhas tem vindo a relacionar-se com o risco aumentado de CP, como já foi referido anteriormente (Hessels & Schalken, 2013). No entanto, AMACR não é específico para o CP e não se deteta através da urina (Prensner et al., 2012).

Os MicroRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA não codificante (19-23 nucleótidos), que desempenham um papel importante na carcinogénese, através da sua capacidade de funcionar tanto como supressores tumorais, como oncogenes (Dijkstra, Mulders, & Schalken, 2014). Têm-se observado em diversos estudos no âmbito da deteção de marcadores moleculares que visam melhorar o diagnóstico para vários tipos

de tumores, a deteção de miRNAs que no caso específico do CP, podem ser detetados no sangue (soro e plasma) e na urina (Mitchell et al., 2008; Salido Guadarrama et al., 2016).

Estudos independentes demonstraram que existem dois tipos de miRNAs em circulação detetados em células prostáticas tumorais, o miRNA-141 e o miRNA-375, e não aparecem em células saudáveis, sugerindo a sua utilização como marcadores de prognóstico e diagnóstico específicos para o CP (Brase et al., 2011; Bryant et al., 2012; Dijkstra et al., 2014; Kuner, Brase, Sültmann, & Wuttig, 2013).

Os níveis plasmáticos elevados de miRNA-141 e miRNA-375, podem identificar a presença ou não de metástases em CP resistentes à castração e estar associados a neoplasias de alto grau de acordo com a classificação de Gleason (Kuner et al., 2013). É de realçar que a presença elevada de miRNA-141 no plasma, encontra-se primeiramente presente em CP metastáticos em comparação com indivíduos saudáveis (Kuner et al., 2013; Mitchell et al., 2008). Por ultimo, os níveis de miRNA-141 e miRNA-375 aumentam durante a progressão do tumor, estando ambos envolvidos na progressão da doença (Kuner et al., 2013).

3.2. Marcadores Imunocitoquímicos

A Imunocitoquímica (ICQ) desempenha um papel importante no diagnóstico de patologias benignas e malignas após a análise histológica da biópsia ou da peça cirúrgica (Fleshman & Maclennan, 2005).

Existem duas orientações prementes para a utilização da imunocitoquímica na patologia prostática, em que a primeira corresponde à confirmação de CP e/ou distingue da doença benigna, e a segunda consiste na distinção de CP a partir de lesões malignas não prostáticas, que posteriormente envolvem a próstata (Paner, Luthringer, & Amin, 2008).

Os marcadores de imunocitoquímica específicos no diagnóstico do CP, encontram-se associados ao CP, às células basais e aos marcadores específicos da próstata, como se pode observar na tabela 5 (Paner et al., 2008).

Tabela 5: Marcadores imunocitoquímicos específicos utilizados no diagnóstico do CP (adaptada de Paner et al., 2008).

Marcação ICQ	Circunstâncias de utilização
Marcadores associados às células basais	Proliferação maligna vs benigna → Ausência da camada de células basais, define o CP invasivo.
CK 34βE12	
CK 5/6	
p63	
Marcadores associados ao CP	Proliferação maligna vs benigna → Expressão favorece a transformação neoplásica.
AMACR	
Marcadores específicos da próstata	Origem não prostática vs prostática → Por exemplo: glândula bulbouretral; ducto mesonéfrico; vesículas seminais; adenoma nefrogénico.
PSA	
PAP	

A ausência da camada de células basais, corresponde a um critério histológico importante para o CP, na medida em que a falta de marcação ICQ de células basais fornece sustentação, para o diagnóstico de patologia maligna em lesões prostáticas atípicas (Dabir, Ottosen, Høyer, & Hamilton-Dutoit, 2012).

As células basais exibem marcação ICQ positiva para citoqueratinas de elevada massa molecular, como é o caso da citoqueratina 34βE12, da citoqueratina 5/6 e também para a proteína p63 (Dabir et al., 2012; Paner et al., 2008).

A citoqueratina 34βE12 de elevada massa molecular é um marcador citoplasmático e apresenta alta especificidade para as células basais da próstata, a marcação ICQ para a citoqueratina 34βE12 está frequentemente ausente em situações benignas (Fleshman & Maclennan, 2005; Paner et al., 2008). No caso da citoqueratina 5/6, esta é de tamanho intermédio, expressa-se geralmente em células basais de lesões benignas da próstata, evidenciando uma marcação ICQ citoplasmática contínua da camada profunda do epitélio prostático. A sensibilidade e especificidade que apresenta para as células basais no diagnóstico após biópsia é semelhante à da citoqueratina 34βE12. Também se obtiveram resultados idênticos a estes, com anticorpos para a citoqueratina 14 (Dabir et al., 2012; Paner et al., 2008).

A proteína p63, um homólogo da proteína supressora tumoral p53, é essencial para o desenvolvimento da próstata e é expressa seletivamente no compartimento de células basais de diversos tecidos epiteliais prostáticos, auxiliando na identificação dos núcleos

de células basais nas lesões benignas da próstata (Dabir et al., 2012; Shiran, Tan, Sabariah, Rampal, & Phang, 2007).

A citoqueratina 34 β E12 e a proteína p63 são comparáveis em termos de especificidade, uma vez que ambas são altamente específicas para as células basais e estão ausentes em zonas tumorais (Paner et al., 2008).

Por outro lado, o AMACR é considerado um marcador “positivo” para o cancro, uma vez que apresenta marcação ICQ positiva em células prostáticas atípicas (Fleshman & Maclennan, 2005).

Vários estudos apoiam a combinação de marcadores de células basais com o marcador AMACR, auxiliando na distinção de patologias malignas e benignas. Esta combinação pode englobar até três marcadores diferentes (por exemplo AMACR, CK5/6 e p63). Estudos recomendam que esta combinação tripla possa ser utilizada na avaliação do rastreio do CP nas biópsias (Dabir et al., 2012).

Em relação aos marcadores específicos da próstata (PSA e a PAP), também existem tumores não prostáticos que podem expressar ambos ou apenas um dos marcadores. Estes são úteis na identificação e confirmação de diagnóstico de outros tumores, que podem envolver o da próstata, ou seja, identificação de tumores pouco diferenciados como é o caso do cancro da bexiga (Hameed & Humphrey, 2005). A expressão destes marcadores difere a nível do CP metastático e do primário, devido a alterações moleculares na progressão do tumor (Queisser et al., 2015).

Relativamente ao PSA, este pode ser detetado em glândulas prostáticas normais, em CP primários e metastáticos. No entanto, a intensidade de marcação ICQ do PSA em tecido neoplásico é menor do que em tecido benigno prostático, este facto pode resultar da baixa expressão deste marcador em CP metastáticos (Queisser et al., 2015).

4. Fatores genéticos do Cancro da Próstata

4.1. Gene *MTHFR*

O gene *MTHFR* codifica a enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) que desempenha um papel fundamental no ciclo do folato e no metabolismo da homocisteína (Yadav et al., 2015). Este gene apresenta 11 exões codificantes (com base nos dados Ensembl; Aken et al., 2016), e está localizado no braço curto (p) do cromossoma 1 na posição 36.22 (figura 7) (Genetics Home Reference, 2016; NCBI, 2016).

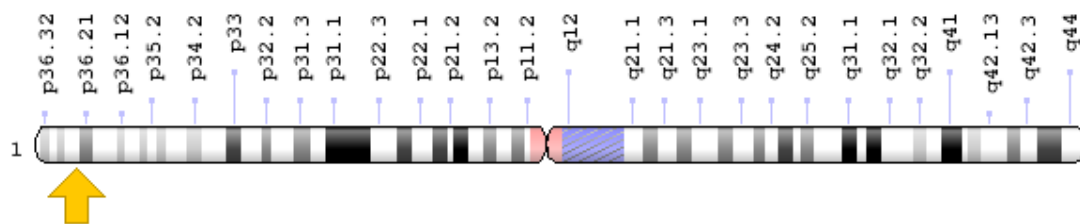


Figura 7: Localização do gene *MTHFR* no braço curto (p) do cromossoma 1 na posição 36.22 (retirado de Genetics Home Reference, 2016).

A enzima MTHFR catalisa a conversão irreversível do 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metilenotetrahidrofolato, gerando, assim a forma ativa de ácido fólico, responsável pela doação de grupos metil para a síntese de metionina a partir da homocisteína (figura 8) (S-adenosilmetionina é o precursor de metionina, necessário para a metilação do DNA) (Kumar, Yadav, & Rai, 2015; López-Cortés et al., 2015; Yadav et al., 2015). A homocisteína é um intermediário, produzido quando o organismo metaboliza metionina, um aminoácido essencial (Orbell et al., 2013).

Existem dois polimorfismos do gene *MTHFR* que podem estar relacionados com o desenvolvimento do CP, através da alteração da atividade enzimática, o polimorfismo C677T (Ala222Val) e A1298C (Glu429Ala). Apesar do polimorfismo A1298C também influenciar a atividade específica da enzima, o polimorfismo C677T é o mais estudado, pois tem maior influência na atividade enzimática (Bai et al., 2009; Yadav et al., 2015).

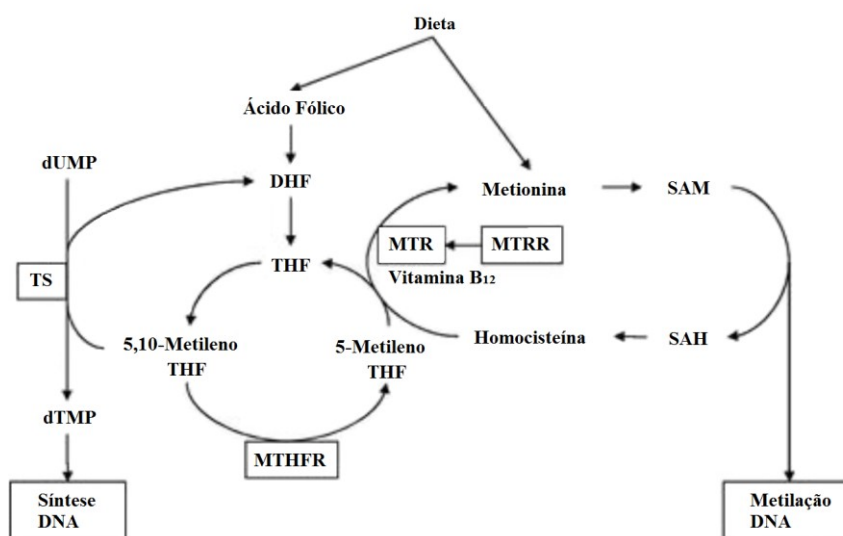


Figura 8: Metabolismo do folato (adaptada de Suzuki et al., 2008).

4.1.1. Polimorfismo C677T do gene *MTHFR*

O polimorfismo C677T (ou Rs1801133) é o mais estudado, localizado no exão 4 do gene *MTHFR*, apresenta a transição de uma citosina (C) por uma timina (T) na posição 677 (C677T), que resulta na substituição de uma alanina por uma valina no resíduo de aminoácido 222 (Ala222Val). O fenótipo resultante dessa substituição consiste numa enzima termolábil com uma atividade enzimática mais reduzida, comparativamente ao genótipo selvagem (CC). Especificamente, os portadores de genótipos CT e TT, ou seja indivíduos heterozigóticos (677CT) e homozigóticos (677TT), expressam uma atividade enzimática com redução de 65% e 30%, respetivamente, quando comparados com o genótipo selvagem CC (677CC) (Bai et al., 2009; Guo et al., 2015; Kumar et al., 2015; Rasool R, 2015).

Neste polimorfismo de nucleótido único (SNP), o alelo T do gene *MTHFR* tem sido associado a uma diminuição da atividade da enzima, que pode estar envolvido no desenvolvimento de determinados tipos de cancro (Johansson et al., 2007). Com os mesmos níveis de folato sérico, os indivíduos homozigóticos para o alelo T, possuem uma atividade enzimática insuficiente, o que poderá resultar em hipometilação genómica, tornando o polimorfismo *MTHFR* C677T um fator de risco genético para alguns tipos de cancro (por exemplo o cancro da mama), doenças cardiovasculares, complicações gestacionais (por exemplo a pré-eclâmpsia ou a espinha bífida), síndrome de Down, epilepsia e ainda para a doença de Parkinson (Hosseini, Houshmand, & Ebrahimi, 2011; Muthuswamy & Agarwal, 2016; Rasool R, 2015).

A distribuição da frequência do polimorfismo C677T do gene *MTHFR* depende da etnia e da localização geográfica. A prevalência do genótipo TT é menor, variando entre 1 e 2%, em populações de raça negra dos Estados Unidos, África subsariana e América do sul, e maior, com cerca de 20% em populações hispano-americanas, colombianas, italianas e brasileiras (Liew & Gupta, 2015; Yadav et al., 2015).

Como já foi referido anteriormente, deficiências a nível do ciclo do folato no organismo podem aumentar a incidência de vários tipos de cancros. Alguns estudos realizados, afirmam que o consumo de álcool em homens que apresentem o genótipo CC e também baixa ingestão de ácido fólico possuem maior risco de desenvolver o CP (Guo et al., 2015; Kobayashi et al., 2012; Liew & Gupta, 2015).

4.2. Gene *KLK3* ou PSA

O gene *KLK3* codifica o antigénio específico da próstata (PSA), também conhecido por gene *Kallikrein-related peptidase 3 (KLK3)*, membro da família de *Kallikrein (KLK)*, sendo esta constituída por 15 genes localizados no cromossoma 19, com um tamanho de aproximadamente 280 kb (Hong, 2014; Rodriguez et al., 2013). Os 15 genes *KLK* encontram-se agrupados num *cluster* de genes, sendo transcritos a partir do centrómero para telómero, com a exceção de *KLK2* e *KLK3*, como se pode observar na figura 9. Esta organização pode estar interrompida em alguns tipos de células tumorais (Lawrence, Lai, & Clements, 2010).

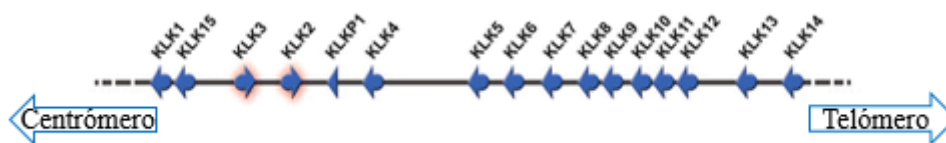


Figura 9: Organização do *locus* da família de genes *KLK* (adaptada de Lawrence et al., 2010).

O gene *KLK3* está localizado no braço longo (q) na região cromossómica 19q13.41 (figura 10), o comprimento destes genes varia entre 4 e 10 kb, sendo constituídos por cinco exões codificantes idênticos e quatro intrões de tamanho variável (Borgoño & Diamandis, 2004; Emami & Diamandis, 2008).

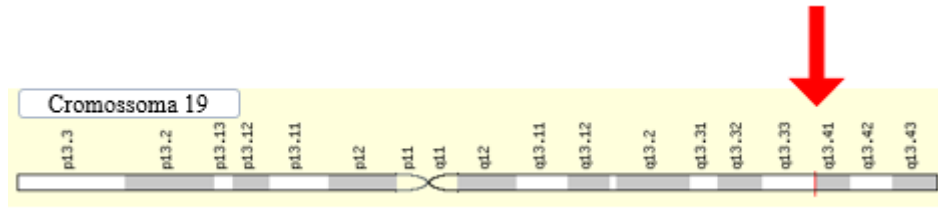


Figura 10: Localização do gene *KLK3* no braço longo (q) do cromossoma 19 na posição 13.41 (adaptada de Weizmann Institute of Science, 2016d).

Na próstata, o gene *KLK3* é regulado pelo AR que consiste num recetor de androgénios. Após a ligação de androgénios ao AR, ocorre uma alteração na sua conformação, levando à translocação do AR para o núcleo e posterior transcrição de sequências específicas de DNA, designadas por elementos de resposta aos androgénios (ARE). Os AREs correspondem nomeadamente a repetições de sequências palindrómicas de seis nucleótidos separados por três nucleótidos (GGTACAnnTGTCT) (Lai et al., 2006; Olsen et al., 2016).

Existem três AREs descritos no gene *KLK3*, o ARE-I, ARE-II e ARE-III (figura 11). O ARE-I encontra-se localizado na região promotora proximal do gene *KLK3* a -170 e o ARE-II na mesma região a -394, o ARE-III localiza-se na região promotora distal na posição -4200 (Lai et al., 2006).

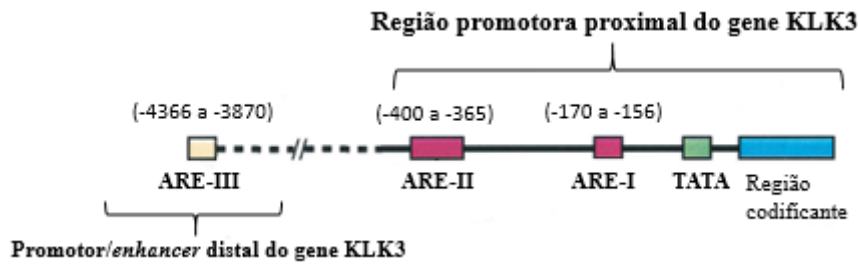


Figura 11: Elementos reguladores presentes no promotor do gene *KLK3*. Legenda: TATA – box no promotor (adaptada de Balk et al., 2003).

4.2.1. Proteína PSA

A proteína PSA da família *KLK*, é a mais caracterizada e corresponde ao biomarcador mais utilizado no diagnóstico do CP, estadiamento tumoral e no controlo da doença após tratamento, como foi mencionado anteriormente (Borgoño & Diamandis, 2004; Klein et al., 2010).

O gene *KLK3* ou PSA codifica uma protease do tipo serina, produzida predominantemente pela próstata, mais especificamente pelas células secretoras prostáticas. Apesar de PSA ser encontrada em maior quantidade no sêmen, também está presente em menor porção na circulação sanguínea (Hong, 2014; Rodriguez et al., 2013).

O PSA é uma glicoproteína de aproximadamente 28741 Da, com 261 resíduos de aminoácidos, e é responsável pela degradação de proteínas secretadas pelas vesículas seminais (semenogelina I e semenogelina II), resultando na liquefação e libertação do sêmen (Hong, 2014; Savblom et al., 2014; Weizmann Institute of Science, 2016d).

A proteína PSA é sintetizada como preproPSA, contendo uma sequência sinalizadora no terminal N (pre) com 17 resíduos de aminoácidos. Esta sequência é posteriormente clivada, gerando a forma inativa da proteína (proPSA) com 244 resíduos de aminoácidos (Balk et al., 2003; Borogño & Diamandis, 2004).

Vários estudos referem que a proteína KLK2 pode representar um ativador fisiológico para o PSA, visto que também procede à clivagem das proteínas semenogelina I e semenogelina II (Savblom et al., 2014). A ativação do PSA deve-se à ação da proteína KLK2 através da clivagem dos sete aminoácidos N-terminal do proPSA, que ocorre entre a arginina na posição 7 e a isoleucina na posição 8 permanecendo com 237 resíduos de aminoácidos na forma ativa (Balk et al., 2003).

O epitélio prostático normal rodeado por células basais, secreta proPSA para o lúmen das glândulas, em que este é removido pela proteína KLK2 de modo a gerar o PSA ativo. Dissemina-se para a circulação, uma porção deste PSA ativo, ligando-se aos inibidores da protease (particularmente α -1 anti-quimiotripsina) que inativam o PSA ativado. Existe também uma forma de PSA identificada na zona de transição da próstata, denominada por PSA benigno (bPSA) que está aumentado em doentes com HBP (Balk et al., 2003; Savblom et al., 2014).

O PSA é específico do órgão, mas não é específico do cancro. Todas as células, quer sejam de tecido normal, HBP ou neoplásicas prostáticas produzem PSA, no qual os níveis mais elevados são encontrados na zona de transição em doentes com HBP. As células de CP produzem níveis de PSA mais baixos comparativamente com os produzidos pelas células de HBP, que se compensa pelo aumento da quantidade de PSA que entra em circulação, devido a lesões de CP primários e metastáticos. É importante realçar que a

expressão do PSA diminui com o aumento da classificação de Gleason (Shariat, Canto, Kattan, & Slawin, 2004).

A proteína PSA desempenha uma ação mitogénica fundamental na estimulação da proliferação do tumor, participando na clivagem da IGBFP-3 onde é libertado um agente mitogénico, o IGF-I, agente das células epiteliais e estromais da próstata. Alguns estudos demonstraram, que os níveis totais do IGF-I estão associados ao risco de CP avançado (Hassan, Kumar, Singh, & Yadav, 2007; Penney et al., 2011).

O PSA pode também ativar o *Transforming Growth Factor β* (TGF- β), de modo a estimular a diferenciação celular, facilitando a disseminação do tumor. Uma ação importante na luta contra este tipo de cancro é a inibição do PSA, de forma a controlar a progressão do tumor (Hassan et al., 2007).

Visto que os níveis de PSA variam consoante a idade, um aumento destes níveis pode indicar que se tratam de doenças prostáticas benignas, relacionadas com este fator de risco e não somente à presença de CP, tornando este biomarcador pouco específico para doenças malignas (Ulmert, O'Brien, Bjartell, & Lilja, 2009). De modo a analisar o risco de CP, estabeleceram-se valores de referência do PSA total relacionados com a idade do doente, como se pode observar na tabela 6:

Tabela 6: Níveis de referência do PSA total associados à faixa etária (adaptada de Carroll et al., 2009).

Faixa etária (anos)	Concentrações de PSA total (ng/ml)
40 – 49	$\leq 2,5$
50 – 59	$\leq 3,5$
60 – 69	$\leq 4,5$
70 – 79	$\leq 6,5$

Caso a concentração de PSA total seja < 2 ng/ml, existe uma baixa probabilidade de ter CP em doentes assintomáticos. Diante de uma concentração de PSA total > 10 ng/ml, existe uma probabilidade elevada de CP, sendo recomendada a realização de biópsia. No entanto, é importante realçar que resultados normais não excluem a possibilidade de CP (Carroll et al., 2009).

4.2.2. Polimorfismo ARE-I do gene *KLK3*

Alguns estudos demonstraram que um número elevado de polimorfismos no gene *KLK3* têm sido associados às variações das concentrações de PSA no sangue, referindo a importância destes polimorfismos como possíveis biomarcadores para um melhor diagnóstico do CP (Lai et al., 2006; Rodriguez et al., 2013).

O SNP na região promotora do gene *KLK3* em ARE-I deste gene é alvo de vários estudos, relacionando-o com o risco de CP. Este polimorfismo foi identificado na região promotora proximal (ARE-I) do gene *KLK3* na posição -158, denominado por rs266882, que resulta da substituição de uma guanina (G) por uma adenina (A). Esta substituição pode afetar a afinidade de ligação do AR e consequentemente a transcrição do gene. O alelo A apresenta maior afinidade e estabilidade de ligação (Jesser et al., 2008; Lai et al., 2006).

Este SNP tem sido associado ao aumento dos níveis de PSA. Vários estudos relacionam a frequência dos alelos com a variação dos níveis de PSA no sangue e consequente risco de CP (Jesser et al., 2008; Lai et al., 2006).

Diversos estudos publicados, demonstraram que existe uma relação contraditória entre a associação deste SNP e o CP. No entanto, muitos destes estudos têm sido conduzidos por grupos pequenos e moderados, em populações de diferentes etnias e por números de casos variáveis em estudo (Lai et al., 2006).

Na tabela 7, pode-se observar as principais conclusões de estudos publicados que relacionam o polimorfismo rs266882 com o risco de desenvolver CP.

Tabela 7: Principais estudos publicados que estabelecem a associação do polimorfismo rs266882 e o risco de desenvolver CP.

População	Conclusões importantes (risco)	Referências
Caucasiana e afro-americana	Genótipo GG aumenta três vezes o risco de CP mais avançado.	(W. Xue et al., 2000)
Caucasiana, hispânica, afro-americana e japonesa-americana	Genótipo AA está associado a níveis de PSA mais elevados do que o genótipo AG.	(W. M. Xue et al., 2001)
Caucasiana	Presença de alelo G, diminui significativamente o risco de desenvolver CP (efeito protetor). Genótipo GG associado a CP mais agressivos (<i>score</i> de Gleason > 7).	(Gsur et al., 2002)
Portuguesa	Genótipo AA associado ao aumento do risco de desenvolver CP em idades < 67 anos e a níveis mais elevados de PSA.	(Medeiros et al., 2002)
Caucasiana e afro-americana	SNP não está associado aos níveis de PSA.	(Rao et al., 2003)
Japonesa	SNP não está associado aos níveis de PSA, nem com o risco de desenvolver CP.	(L.-Z. Wang et al., 2003)
Chinesa	Genótipo GG associado a maior volume tumoral e a estádios mais avançados. Alelo G associado ao risco de CP.	(Chiang, Chen, Chang, & Hong, 2004)
Escocesa	Genótipo GG aumenta o risco de desenvolver CP em idades < 65 anos.	(Binnie, Alexander, Heald, & Habib, 2005)
Caucasiana	Genótipo GG associado ao CP, em pacientes com a doença num estágio menos agressivo.	(Cicek, Liu, Casey, & Witte, 2005)
Austríaca	Genótipo GG associado a um <i>score</i> de Gleason mais elevado em relação aos genótipos AA e AG.	(Schatzl et al., 2005)
Caucasiana Australiana	Genótipos AA e AG aumentam o risco de desenvolver CP. Não existe associação entre o SNP e os níveis de PSA.	(Lai et al., 2006)

Australiana	Não existe associação entre o SNP e o risco de desenvolver CP, nem com os níveis de PSA.	(Severi et al., 2006)
Norte-americana	Associação entre a presença de metástases ganglionares e o SNP. Alelo A associado a menor invasão dos gânglios linfáticos.	(Cramer, Sun, Zheng, Xu, & Peehl, 2008)
Turca	Alelo G probabilidade duas vezes maior de desenvolver o CP, na presença de um <i>score</i> de Gleason mais elevado ($score \geq 7$) e níveis de PSA também mais elevados.	(Kalay et al., 2009)
Indiana	Genótipos AA e AG associados ao risco de desenvolver CP e HBP.	(Soni et al., 2012)
Árabe	Genótipo GG associado ao maior risco de CP. Alelo G mais frequente em pacientes com CP do que com HBP. SNP não está associado ao estadiamento tumoral, nem aos níveis de PSA no sangue.	(Samzadeh et al., 2012)
Coreana	Pacientes saudáveis portadores dos genótipos AA e AG associados a níveis de PSA sérico mais elevados.	(Song, Park, & Lee, 2013)

Apesar de alguns resultados contraditórios, é importante salientar que a associação entre o polimorfismo ARE-I do gene *KLK3* e o desenvolvimento do CP trata-se de uma questão que tem vindo a ser estudada, realizando-se testes focados nas variantes genéticas que afetam, por exemplo os níveis de PSA, de modo a auxiliar no diagnóstico, prognóstico, redução do número de biópsias desnecessárias e na escolha do melhor tratamento a instituir em cada situação clínica do CP (Song et al., 2013; W. Xue et al., 2000).

4.3. Genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* da família GST

As Glutathione S-transferases (GSTs) consistem numa superfamília de enzimas que catalisam a conjugação da glutathione, com vários substratos endógenos e exógenos (xenobióticos) e assim protegem as células da ação de eletrófilos. A glutathione é um tripéptido (gama-glutamil-cisteinil-glicina) que apresenta três aminoácidos, o glutamato, a cisteína e a glicina, atuando como um antioxidante hidrossolúvel (Schnekenburger et al., 2014).

A família GST pode ser classificada em 8 classes distintas: α , μ , κ , ω , π , σ , θ e ζ que são codificadas pelos genes *GSTA*, *GSTM*, *GSTK*, *GSTO*, *GSTP*, *GSTS*, *GSTT* e *GSTZ*, respetivamente (Safarinejad, Shafiei, & Safarinejad, 2011).

As enzimas GSTs são importantes na desintoxicação enzimática de fase II de xenobióticos eletrófilos, tais como produtos químicos cancerígenos, agentes poluentes ambientais e agentes antitumorais, induzidos por *stress* oxidativo (Zhou, Drummen, Jiang, & Qin, 2014).

Diversos estudos têm demonstrado que os produtos dos genes modulam as vias de sinalização da proliferação celular, diferenciação celular e apoptose. A ocorrência de alterações epigenéticas nos genes da família GST, levam à perda da sua capacidade de desintoxicação celular, promovendo o desenvolvimento do CP (Dusinska et al., 2012; Zhou et al., 2014).

Os genes mais amplamente estudados são o *GSTM1*, *GSTT1* e o *GSTP1*. Deficiências nestes genes podem aumentar o risco de ocorrer mutações, e consequentemente promover o desenvolvimento do CP (Safarinejad et al., 2011).

4.3.1. Gene *GSTM1*

O gene *GSTM1* codifica a glutathione s-transferase da classe μ , encontram-se localizadas num *cluster* de genes na região cromossómica 1p13.3 (figura 12) e são conhecidos por serem altamente polimórficos (Weizmann Institute of Science, 2016a).



Figura 12: Localização do gene *GSTM1* no braço curto (p) do cromossoma 1 na posição 13.3 (adaptada de Weizmann Institute of Science, 2016a).

As mutações genéticas que ocorrem neste gene, nomeadamente deleções, têm estado associadas ao aumento do número de CP. As deleções podem levar à ausência da atividade enzimática de *GSTM1*, alterando a suscetibilidade aos agentes cancerígenos e a toxinas, bem como a toxicidade e a eficácia de determinados fármacos (Sivoňová et al., 2009; Weizmann Institute of Science, 2016a). A atividade enzimática de *GSTM1* encontra-se ausente em aproximadamente 40% a 60% da população caucasiana, como resultado da herança de dois alelos nulos (conduzem à ausência da expressão do genótipo) (Ntais, Polycarpou, & Ioannidis, 2005).

4.3.2. Gene *GSTT1*

O gene *GSTT1* que codifica a glutiona s-transferase da classe θ , localizado no cromossoma 22q11 (Figura 13), corresponde a uma das variantes mais importantes de GST. A enzima GSTT1 catalisa a desintoxicação do óxido de etileno e do brometo de metilo, e de outros metabolitos halogenados. A alteração da capacidade de desintoxicação encontra-se envolvida na patogénese de vários cancros, incluindo o da próstata (Zhou et al., 2014).

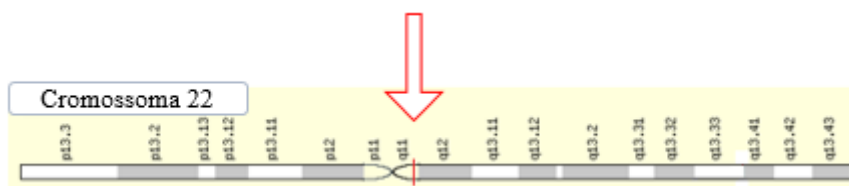


Figura 13: Localização do gene *GSTT1* no braço longo (q) do cromossoma 22 na posição 11 (adaptada de Weizmann Institute of Science, 2016c).

A classe θ inclui não só o *GSTT1*, como também o *GSTT2*. Tanto o gene *GSTT1*, como *GSTT2* partilham em 55% da identidade da sequência de aminoácidos e podem desempenhar um papel importante na carcinogénese (Weizmann Institute of Science, 2016c). Em relação a um estudo realizado por Ntais, C. et al. (2005), observou que a

atividade de *GSTT1* se encontra ausente (deleção homozigótica do gene) em aproximadamente 20% a 30% da população caucasiana (Ntais et al., 2005).

É importante salientar que o papel destas enzimas é crucial na proteção do DNA contra danos oxidativos, no qual as enzimas *GSTM1* e *GSTT1* apresentam diferentes especificidades de substrato na desintoxicação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos cancerígenos (Ntais et al., 2005).

4.3.3. Gene *GSTP1*

O gene *GSTP1* codifica a glutathiona s-transferase da classe π , enzima metabólica de fase II importante na desintoxicação enzimática de xenobióticos eletrófilos (Beer et al., 2002), que apresenta localização citogenética no cromossoma 11q13.2, como se pode observar na figura 14 (Weizmann Institute of Science, 2016b).



Figura 14: Localização do gene *GSTP1* no braço longo (q) do cromossoma 11 na posição 13.2 (adaptada de Weizmann Institute of Science, 2016b).

A região que codifica o gene *GSTP1* é controlada por um grande número de ilhas CpG no local de iniciação da transcrição da região promotora. A regulação da expressão de *GSTP1* apresenta vários fatores de transcrição importantes, tais como o GATA-1 (fator de transcrição eritróide), SP-1 (proteína de especificidade 1), AP-1 (proteína ativadora 1) e NF- κ B (fator nuclear kappa de células B ativadas). O gene *GSTP1* também está envolvido na regulação da apoptose celular. A sobre-expressão do gene pode indicar que a atividade de desintoxicação enzimática foi aumentada devido à exposição a xenobióticos, implicando *stress* oxidativo (Schnekenburger et al., 2014).

Como referido anteriormente no capítulo dos biomarcadores e no dos mecanismos de carcinogénese no CP da presente monografia, é neste gene que se encontra a alteração epigenética mais observada no CP, a hipermetilação das ilhas CpG da região promotora do gene *GSTP1*, considerando este mecanismo molecular um biomarcador para o CP (Schnekenburger et al., 2014).

4.3.4. Polimorfismo A313G do gene *GSTP1*

A avaliação do papel dos polimorfismos em genes envolvidos no *stress* oxidativo, pode representar uma estratégia importante, facilitando a determinação do risco de desenvolver CP (Zhou et al., 2014).

Este SNP do gene *GSTP1* representa o polimorfismo mais estudado da família GST. É caracterizado pela transição de uma adenina (A) por uma guanina (G) na posição 313, que resulta na substituição de uma isoleucina por uma valina no resíduo de aminoácido 105 (Ile105Val), provocando a diminuição da atividade enzimática de *GSTP1* e, conseqüentemente a redução da capacidade de desintoxicação celular (Beer et al., 2002; Ntais et al., 2005; Safarinejad et al., 2011; Schnekenburger et al., 2014; Sivoňová et al., 2009).

A tabela 8 sintetiza as principais conclusões de estudos publicados que associam o polimorfismo A313G com o risco de desenvolver CP.

Tabela 8: Principais estudos encontrados sobre a associação do polimorfismo A313G e o risco de desenvolver CP.

População	Conclusões importantes (risco)	Referências
Indiana	Genótipo AA é o mais frequente em casos de CP. Genótipo AG associado ao CP em idades mais avançadas. SNP associado ao risco de desenvolver CP.	(Qadri et al., 2011)
Caucasiana	SNP associado ao risco de desenvolver CP.	(Cai et al., 2013)
Caucasiana	SNP associado ao risco de desenvolver CP.	(Yu et al., 2013)

5. Tratamento do Cancro da Próstata

Após a realização do diagnóstico de CP, é importante estabelecer o protocolo adequado à situação clínica específica do doente, visto que o tratamento utilizado no CP localizado difere totalmente do tumor avançado, localmente avançado ou metastático (Heidenreich et al., 2014; Mottet et al., 2015; Parker, Gillessen, Heidenreich, & Horwich, 2015). Na tabela 9 pode-se observar diversas estratégias terapêuticas a utilizar em cada estágio do CP (Parker et al., 2015).

Tabela 9: Estratégias terapêuticas associadas ao estadiamento tumoral (adaptada de Parker et al., 2015).

Estadiamento tumoral	Estratégias terapêuticas
CP localizado	
Risco baixo	Vigilância ativa
	Braquiterapia
	Prostatectomia radical
	Radioterapia externa
Risco intermédio	Vigilância ativa
	Braquiterapia
	Prostatectomia radical
	Radioterapia externa (opção de ADT neoadjuvante)
Risco elevado	Neoadjuvante ADT + Radioterapia externa + adjuvante ADT
	Radioterapia externa + linfadenectomia pélvica
CP localmente avançado	
	Neoadjuvante ADT + Radioterapia externa + adjuvante ADT
	Radioterapia externa + linfadenectomia pélvica
CP metastático	
CP metastático - terapêutica inicial	ADT
CP resistente à castração (1ª linha)	Abiraterona
	Docetaxel
	Enzalutamida
	Rádio-233
	Sipuleucel-T
CP resistente à castração (2ª linha)	Abiraterona
	Cabazitaxel
	Enzalutamida
	Rádio-233

5.1. Tratamento do Cancro da Próstata localizado

Atualmente, as opções mais utilizadas para este tipo de tratamento são: vigilância ativa e espera vigilante, prostatectomia radical, braquiterapia e radioterapia externa (Mottet et al., 2015; Parker et al., 2015).

5.1.1. Vigilância Ativa e Espera Vigilante

O tratamento do CP utilizado em fase precoce de evolução, pode variar consoante três diferentes grupos de risco (tabela 10), de modo a orientar o prognóstico e a consequente terapêutica (Heidenreich et al., 2014; Mottet et al., 2015; Parker et al., 2015).

Tabela 10: Grupos de risco para o CP localizado. Legenda: GS – score de Gleason; PSA – antígeno específico da próstata; T – tumor primário (adaptada de Parker et al., 2015).

Risco baixo	Risco intermédio	Risco elevado
T1 – T2 e GS ≤ 6 e PSA ≤ 10 ng/ml	T2b e/ou GS = 7 e/ou PSA = 10 – 20 ng/ml	≥ T2c ou GS = 8 -10 ou PSA > 20 ng/ml

Numa fase precoce do CP localizado, tenta-se efetuar um tratamento com fins terapêuticos (Parker et al., 2015). De modo a evitar perda de qualidade de vida, o tratamento do CP localizado em alguns casos pode ser adiado, na qual são respeitadas duas estratégias de tratamento: a vigilância ativa e a espera vigilante (tabela 11) (Heidenreich et al., 2014; Mottet et al., 2015).

Tabela 11: Definições de vigilância ativa e espera vigilante (adaptada de Mottet et al., 2015).

	Vigilância ativa	Espera vigilante
Tratamento	Terapêutico	Paliativo
Acompanhamento (Follow up)	Predefinido	Específico para cada paciente
Esperança de vida	> 10 anos	< 10 anos
Alvo	Minimizar a toxicidade relacionada com o tratamento sem comprometer a sobrevivência	Minimizar a toxicidade relacionada com o tratamento
Grupos de indivíduos alvo	Aplicado apenas a pacientes de baixo risco	Aplicado a todos os pacientes independentemente do estágio

5.1.2. Prostatectomia Radical

A prostatectomia radical consiste no procedimento cirúrgico (remoção de toda a próstata e de ambas as vesículas seminais) mais utilizado em indivíduos com idades inferiores a 70 anos, que apresentem CP localizado (risco baixo ou intermédio e pacientes selecionados com elevado risco) (Heidenreich et al., 2014; Mottet et al., 2015).

5.1.3. Braquiterapia

A braquiterapia refere-se à colocação de implantes radioativos no interior da próstata. Existem duas formas de braquiterapia distintas, a braquiterapia de baixa taxa de dose realizada em pacientes com risco baixo ou intermédio de CP ou em combinação com a radioterapia externa em pacientes com elevado risco de CP e a braquiterapia de alta taxa de dose utilizada em combinação com a radioterapia externa em pacientes de risco intermédio ou alto (Keyes et al., 2013; Mottet et al., 2015).

5.1.4. Radioterapia Externa

A radioterapia externa consiste na administração de radiação exterior ao corpo, indicado em pacientes que apresentem um baixo ou intermédio risco de CP. Este tipo de terapêutica é direcionado ao local do tumor, permitindo que os tecidos normais não sejam afetados (Mottet et al., 2015; Parker et al., 2015). Pode ser combinada com a terapia de privação de androgénios (Keyes et al., 2013).

5.2. Tratamento do Cancro da Próstata avançado (localmente avançado ou metastático)

Neste estadiamento tumoral pode-se utilizar em combinação ou não com as alternativas referidas anteriormente, a terapia de privação de androgénios, o tratamento do cancro da próstata resistente à castração e o tratamento de complicações ósseas, dependendo do estado clínico do doente e do critério clínico de cada médico (Cornford et al., 2016; Mottet et al., 2015; Parker et al., 2015).

5.2.1. Terapia hormonal/Terapia de privação de androgénios

O crescimento do CP depende essencialmente da existência de androgénios, assim sendo o principal objetivo deste tratamento consiste em bloquear a ação desta hormona (Bostwick et al., 2004; Mottet et al., 2015). A terapia hormonal, também conhecida por terapia de privação de androgénios (ADT), apresenta vários tipos de tratamento utilizados no CP, tais como:

5.2.1.1 Agonistas da hormona libertadora da hormona luteinizante (LHRH)

Atualmente este tipo de ADT é o mais utilizado, dado que consiste num tratamento reversível, evitando um desconforto físico e psicológico ao doente associados à castração cirúrgica (Cornford et al., 2016). A hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH) é uma hormona produzida no hipotálamo que controla a produção na hipófise da hormona LH, produzida na glândula pituitária. Esta hormona por sua vez está envolvida no controlo da produção da testosterona pelos testículos (Lepor & Shore, 2012; Rick, Block, & Schally, 2013).

O objetivo deste tratamento consiste na administração de um implante ou injeções repetidas pela via subcutânea ou intramuscular de agonistas LHRH (tabela 12), provocando uma estimulação contínua da glândula pituitária que leva à desregulação dos recetores da glândula para a hormona LHRH (Mottet et al., 2015; Rick et al., 2013).

Tabela 12: Agonistas de LHRH utilizados em prática clínica (adaptada de Rick et al., 2013).

Agonistas LHRH	Buserrelina
	Goserrelina
	Leuprorelina
	Nafarelina
	Triptorrelina
	Histrelina

5.2.1.2 Antagonistas da hormona LHRH

Este tipo de terapêutica consiste na ligação imediata e competitiva dos antagonistas da LHRH aos recetores da glândula pituitária, levando à diminuição rápida dos níveis de LH e testosterona. Visto que, este tratamento apresenta uma rápida diminuição dos níveis de LH e testosterona, comparativamente com os agonistas da LHRH, pode ser particularmente importante em pacientes que apresentem doença localmente avançada ou metastática sintomática. No entanto, exibe a desvantagem de não possuir formulação de implante de ação prolongada (Cornford et al., 2016; Mottet et al., 2015). O antagonista de LHRH utilizado em prática clínica é o Degarelix (Mottet et al., 2015).

5.2.1.3 Anti-androgénios

A terapêutica de bloqueio dos recetores androgénicos a nível da próstata, também conhecida por anti-androgénios, encontra-se normalmente associada aos agonistas LHRH

(Cornford et al., 2016). Os anti-androgénios são fármacos administrados oralmente que competem com a DHT pela ligação ao AR, reduzindo o crescimento das células prostáticas tumorais (Ricci, Buzzatti, Rubagotti, & Boccardo, 2014). Estes fármacos são classificados em anti-androgénios esteróides e não esteróides (tabela 13).

Tabela 13: Anti-androgénios utilizados em prática clínica (adaptada de Mottet et al., 2015).

Anti-androgénios esteróides	Anti-androgénios não esteróides
Acetato de ciproterona	Bicalutamida
	Flutamida
	Nilutamida

5.2.1.4 Orquiectomia bilateral (castração cirúrgica)

Esta alternativa cirúrgica consiste na remoção total ou de células dos testículos que produzem a testosterona, funcionando como uma forma de terapia hormonal irreversível (Cornford et al., 2016; Mottet et al., 2015).

5.3. Tratamento do cancro da próstata resistente à castração

A resistência à castração caracteriza-se por uma elevada expressão ou hiperativação do AR, apesar dos níveis de castração de androgénios. Numa fase mais avançada (metastática) do CP, o tumor deixa de responder ao tratamento hormonal, procedendo-se à realização de quimioterapia com docetaxel (citotóxicos que interferem com a tubulina (INFARMED, s.d.)) em primeira linha, apresentando também os seguintes fármacos: acetato de abiraterona e enzalutamida (inibidores da biossíntese de androgénio); sipuleucel-T (utilizado em imunoterapia) e rádio-223 (atua como um mimético de cálcio). Também é indicado na quimioterapia cabazitaxel (citotóxicos que interferem com a tubulina (INFARMED, s.d.-a)) em pacientes que receberam tratamento com docetaxel previamente, atuando como terapêutica de segunda linha, tal como os seguintes fármacos: abiraterona, enzalutamida e rádio-233 (Cornford et al., 2016; El-Bahesh, Finianos, Alfaraj, & Aragon-Ching, 2015; Merseburger, Bellmunt, Jenkins, Parker, & Fitzpatrick, 2013; Parker et al., 2015; Saad & Miller, 2014).

5.4. Tratamento de complicações ósseas

As complicações ósseas podem ocorrer em consequência dos tratamentos com anti-androgénios ou pelo cancro através de metástases, assim atuando de um modo paliativo em metástases ósseas dolorosas, recomenda-se radioterapia externa e também a utilização

de ácido zoledrónico, da classe dos bifosfonatos, eficaz na prevenção ou redução de complicações ósseas e no alívio da dor óssea (Parker et al., 2015; Saad & Miller, 2014).

A terapia de radioisótopos com os produtos radioativos estrôncio-89 e samário-153, pode ser uma alternativa eficaz em pacientes com metástases ósseas (Saad & Miller, 2014).

Além disso a terapêutica com rádio-223 (um agente α -emissor de radiação, atingindo especificamente metástases ósseas) atua como mimético de cálcio, diminuindo significativamente a dor óssea, de modo a melhorar e prolongar a qualidade de vida em pacientes com CP que apresentem metástases ósseas (So, Chin, Fleshner, & Saad, 2012).

6. Conclusão

O aumento da incidência do CP, não só em Portugal, como a nível mundial, torna esta patologia num assunto de extrema importância, que beneficiaria de novos estudos que explorem a diversidade de alterações genéticas que a causam, em parte ainda muito desconhecidas.

Entre as diferentes doenças da próstata, o CP apresenta uma maior taxa de mortalidade dada a gravidade da doença comparativamente com as restantes, estando os fatores de risco, idade, predisposição familiar e inflamação associados a estas patologias.

Apesar dos mecanismos moleculares envolvidos na carcinogénese deste cancro ainda não serem totalmente conhecidos, o CP desenvolve-se através da acumulação de alterações genéticas e epigenéticas somáticas, que resultam da inativação de genes supressores de tumor e de genes guarda, como também da ativação de oncogenes (De Marzo et al., 2007). A inativação do gene *GSTP1* através da hipermetilação das ilhas CpG, aumenta o número de danos acumulados por *stress* oxidativo, associando a mesma, ao risco elevado de desenvolver CP, dado que a hipermetilação da região promotora de *GSTP1* se restringe apenas a células malignas (Schnekenburger et al., 2014).

O *stress* oxidativo encontra-se cingido nos mecanismos referidos anteriormente, uma vez que a perda de desintoxicação celular promove o desenvolvimento do CP (Dusinska et al., 2012; Zhou et al., 2014). De modo a combater o *stress* oxidativo e a reduzir o risco de CP, estudos identificaram o licopeno, a vitamina E e o selénio como agentes antioxidantes, que possuem propriedades anticancerígenas auxiliando na prevenção do CP (Chen et al., 2015; Ilic et al., 2011).

Para além da alteração do *GSTP1*, existe também um número considerável de genes como o *c-Myc*, *NKX3.1*, *PTEN*, *CDKN1B*, *Rb*, *FOXO1A*, *CDH1*, *EZH2*, *AR* e *TP53* que apresentam diferenças na sua expressão, podendo contribuir para a progressão do CP.

Relativamente às alterações do gene *c-Myc*, estas contribuem para a iniciação e progressão da doença e potenciam o aumento da agressividade do CP (Gurel et al., 2008; Koh et al., 2010; Wahlström & Arsenian Henriksson, 2015). No gene *NKX3.1* a diminuição da sua expressão promove a formação do CP, por aumento de danos oxidativos nas células prostáticas (Cai Bowen et al., 2013; Martinez et al., 2014). Quanto ao gene *PTEN*, a perda da sua função também promove a proliferação anormal das células da próstata, encontrando-se frequentemente associado ao CP avançado (Gonzalvo &

Isaacs, 2003; Nelson et al., 2003). Enquanto que no gene *CDKN1B* a expressão diminuída ou ausente está associada apenas às células prostáticas tumorais (De Marzo et al., 2007). Em relação ao gene *Rb*, a sua perda de expressão encontra-se associada a 90% dos tumores neuroendócrinos de células prostáticas envolvido no desenvolvimento do CP (Tan et al., 2014). No gene *FOXO1A* a sobre-expressão em células de CP, provoca apoptose e induz genes que afetam a proliferação celular (Dong, 2006). A diminuição da expressão do gene *CDHI* no CP encontra-se relacionada com o CP metastático (Dahiya, 2006; Ikonen et al., 2001). O gene *EZH2* é essencial na iniciação, desenvolvimento e progressão do cancro, tendo a sua expressão aumentada no desenvolvimento metastático do CP. Este gene tem vindo a ser representado como um alvo terapêutico promissor, dado que se forem desenvolvidos inibidores específicos para *EZH2*, ocorre um bloqueio da sua atividade, bloqueando o crescimento do tumor (Yamaguchi & Hung, 2014). No gene *AR*, as alterações apresentam uma maior prevalência em tumores metastáticos e independentes da regulação dos androgénios (Nelson et al., 2003; Saraon et al., 2011). Por último, um dos mais estudados, o gene *TP53* apresenta alterações que aceleram a progressão do CP e também estão relacionadas com o crescimento de células independentes de androgénios (Cronauer et al., 2004).

O PSA continua a ser o biomarcador mais utilizado para o rastreio do CP. No entanto, este biomarcador apresenta uma baixa especificidade para o CP, dado que o aumento do nível de PSA no sangue também se deteta em outras patologias prostáticas (Hessels & Schalken, 2013; Wei, 2015).

Os biomarcadores de DNA e RNA têm demonstrado que podem ser detetados na urina, podendo servir como biomarcadores promissores para a deteção do cancro (Hessels & Schalken, 2013). A análise da metilação do DNA da região promotora do gene *GSTP1*, que permite detetar a hipermetilação das ilhas CpG, uma vez que esta hipermetilação de *GSTP1* se restringe às células malignas torna-se um biomarcador mais específico para o CP (Schnekenburger et al., 2014). Em relação à metilação do DNA da região promotora do gene *RASSF1A*, pode representar um biomarcador candidato ao diagnóstico de tumores, tendo em conta que distingue a agressividade dos cancros de acordo com o *score* de Gleason e o estadiamento tumoral (Donninger et al., 2007; Hessels & Schalken, 2013). Presentemente, quanto a biomarcadores de RNA, o biomarcador mais utilizado é o PCA3, que apresenta alta sensibilidade e especificidade ao nível dos tecidos prostáticos tumorais. É importante salientar que não só a combinação deste biomarcador com a análise aos

valores de PSA melhora o diagnóstico de CP, como também a associação de PCA3 com a detecção do mRNA do gene *TMPRSS-ERG* (Prensner et al., 2012; Wei, 2015), concluindo-se que a detecção de níveis elevados de *TMPRSS-ERG* na urina em pacientes que apresentem PSA sérico elevado, pode indicar que se trata de cancros com maior grau de agressividade (Hessels & Schalken, 2013; Tomlins et al., 2011).

Relativamente à marcação ICQ, a utilização da combinação dos marcadores de células basais com o marcador AMACR pode auxiliar eficazmente na distinção de patologias benignas e malignas (Dabir et al., 2012; Hameed & Humphrey, 2005).

Na presente revisão bibliográfica, o objetivo principal baseou-se em identificar quais os fatores genéticos e possíveis polimorfismos que se encontram associados ao aumento do risco de desenvolver CP.

Um gene alvo de investigação associado ao CP é o *MTHFR*, apresentando dois polimorfismos que podem estar associados ao desenvolvimento do CP, através da alteração da atividade enzimática. O polimorfismo C677T do gene *MTHFR* tem sido o mais estudado e associado a vários tipos de cancro, sendo controverso a sua associação com o risco de desenvolver determinados tipos de cancro ou se tem um papel protetor (Collin et al., 2009).

Em relação ao gene *KLK3* ou PSA, este exibe o polimorfismo ARE-I do gene *KLK3*, associado ao risco de CP e ao aumento dos níveis de PSA, assim este SNP provoca possivelmente alterações dos níveis de PSA no sangue, sendo consequentemente associado ao risco de CP (Jesser et al., 2008; Lai et al., 2006).

Em alguns estudos considerados, refere-se que o genótipo GG, em comparação com os outros genótipos, aumenta o risco de CP mais avançado, ou seja, está relacionado com estádios mais agressivos. Estudos relatam que o alelo G é mais frequente em pacientes com CP, outros demonstram que a presença do alelo A está associada a níveis mais elevados de PSA. Ainda é importante frisar, que alguns estudos referem que os genótipos AA e AG é que se encontram relacionados com o aumento do risco de desenvolver CP e com níveis de PSA sérico mais elevados (Binnie et al., 2005; Chiang et al., 2004; Gsur et al., 2002; Kalay et al., 2009; Lai et al., 2006; Medeiros et al., 2002; Samzadeh et al., 2012; Schatzl et al., 2005; Severi et al., 2006; Song et al., 2013; Soni et al., 2012; W. Xue et al., 2000; W. M. Xue et al., 2001).

Perante esta observação, pode-se argumentar que apesar de alguns resultados contraditórios, existe uma relação entre o polimorfismo ARE-I do gene *KLK3* e o desenvolvimento do CP, tratando-se de uma questão bastante estudada ultimamente, onde a análise mais detalhada das variantes genéticas que afetam, nomeadamente os valores de PSA, poderiam ser cruciais no auxílio da caracterização do diagnóstico, prognóstico e na escolha do melhor tratamento a instituir a cada situação clínica do CP.

Os genes da família GST, desempenham uma função fulcral na proteção do DNA contra danos oxidativos, deste modo polimorfismos em genes envolvidos no *stress* oxidativo podem determinar o risco de CP (Ntais et al., 2005; Zhou et al., 2014). Relativamente ao SNP mais estudado dos genes da família GST, o polimorfismo A313G do gene *GSTP1*, alguns estudos avaliaram a frequência dos três genótipos do polimorfismo em indivíduos com CP, em que o genótipo AA apresentou uma maior frequência no CP, concluindo em estudos com resultados semelhantes que existe uma associação significativa entre este SNP e o aumento da suscetibilidade ao CP (Cai et al., 2013; Qadri et al., 2011; Yu et al., 2013).

Dado que o CP se trata de um dos tipos de cancro mais incidentes atualmente, uma das principais preocupações consiste na seleção do melhor tratamento possível, tendo em conta a situação clínica do doente e os diferentes estádios da doença. No caso de se diagnosticar CP localizado, pode optar-se por tratamentos localizados como a radioterapia externa ou a prostatectomia radical. Quando se diagnostica CP avançado a terapia de privação de androgénios é a terapêutica inicial habitualmente utilizada. No entanto em CP metastáticos, estes podem desenvolver CP resistente à castração, sendo utilizada a quimioterapia como opção de tratamento em combinação ou não com outros agentes terapêuticos. Contudo, o diagnóstico e respetivo tratamento devem ser realizados o mais precocemente possível, de modo a tratar da melhor forma possível a doença.

Por fim, é consensual a associação de interligação entre os genes considerados e o aumento da suscetibilidade ao CP. No futuro, graças aos avanços tecnológicos, poderá ser possível identificar importantes polimorfismos candidatos a marcadores moleculares que apresentem maior sensibilidade e especificidade para a deteção do risco de desenvolver CP, auxiliando na eficácia do tratamento.

Bibliografia

- Abt, D., Mordasini, L., Hechelhammer, L., Kessler, T. M., Schmid, H.-P., & Engeler, D. S. (2014). Prostatic artery embolization versus conventional TUR-P in the treatment of benign prostatic hyperplasia: protocol for a prospective randomized non-inferiority trial. *BMC Urology*, *14*(1), 94. <http://doi.org/10.1186/1471-2490-14-94>
- Aken, B. L., Ayling, S., Barrell, D., Clarke, L., Curwen, V., Fairley, S., ... Searle, S. M. J. (2016). The Ensembl gene annotation system. *Database*, *2016*, baw093. <http://doi.org/10.1093/database/baw093>
- Alshahrani, S., McGill, J., & Agarwal, A. (2013). Prostatitis and male infertility. *Journal of Reproductive Immunology*, *100*(1), 30–36. <http://doi.org/10.1016/j.jri.2013.05.004>
- Alvarez-Cubero, M. J., Saiz, M., Martinez-Gonzalez, L. J., Alvarez, J. C., Lorente, J. A., & Cozar, J. M. (2013). Genetic analysis of the principal genes related to prostate cancer: A review. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, *31*(8), 1419–1429. <http://doi.org/10.1016/j.urolonc.2012.07.011>
- American Cancer Society. (2015). Cancer Facts and Figures 2015. *Atlanta*. Disponible en <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>
- Aune, D., Navarro Rosenblatt, D. A., Chan, D. S. M., Vieira, A. R., Vieira, R., Greenwood, D. C., ... Norat, T. (2015). Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *101*(1), 87–117. <http://doi.org/10.3945/ajcn.113.067157>
- Bachmann, N., Hoegel, J., Haeusler, J., Kuefer, R., Herkommer, K., Paiss, T., ... Maier, C. (2005). Mutation screen and association study of EZH2 as a susceptibility gene for aggressive prostate cancer. *The Prostate*, *65*(3), 252–259. <http://doi.org/10.1002/pros.20296>
- Bai, J.-L., Zheng, M.-H., Xia, X., Ter-Minassian, M., Chen, Y.-P., & Chen, F. (2009). MTHFR C677T polymorphism contributes to prostate cancer risk among Caucasians: A meta-analysis of 3511 cases and 2762 controls. *European Journal of Cancer*, *45*(8), 1443–1449. <http://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.01.020>
- Balk, S. P., Ko, Y.-J., & Bubley, J. G. (2003). Biology of Prostate-Specific Antigen. *Journal of Clinical Oncology*, *21*(2), 383–391.

- <http://doi.org/10.1200/JCO.2003.02.083>
- Basu, S., & Tindall, D. J. (2010). Androgen Action in Prostate Cancer. *Hormones and Cancer*, 1(5), 223–228. <http://doi.org/10.1007/s12672-010-0044-4>
- Beer, T. M., Evans, A. J., Hough, K. M., Lowe, B. A., McWilliams, J. E., & Henner, W. D. (2002). Polymorphisms of GSTP1 and related genes and prostate cancer risk. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 5(1), 22–27. <http://doi.org/10.1038/sj.pcan.4500549>
- Beuten, J., Gelfond, J. A. L., Franke, J. L., Shook, S., Johnson-Pais, T. L., Thompson, I. M., & Leach, R. J. (2010). Single and Multivariate Associations of MSR1, ELAC2, and RNASEL with Prostate Cancer in an Ethnic Diverse Cohort of Men. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(2), 588–599. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0864>
- Bhatia-Gaur, R., Donjacour, A. A., Sciavolino, P. J., Kim, M., Desai, N., Young, P., ... Shen, M. M. (1999). Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Genes & Development*, 13(8), 966–977. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC316645>
- Binnie, M. C., Alexander, F. E., Heald, C., & Habib, F. K. (2005). Polymorphic forms of prostate specific antigen and their interaction with androgen receptor trinucleotide repeats in prostate cancer. *The Prostate*, 63(4), 309–315. <http://doi.org/10.1002/pros.20178>
- Borgoño, C. A., & Diamandis, E. P. (2004). The emerging roles of human tissue kallikreins in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 4(11), 876–890. <http://doi.org/10.1038/nrc1474>
- Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S., Landolph, J., ... Timms, B. (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(S10), 2371–2490. <http://doi.org/10.1002/cncr.20408>
- Bowen, C., Ju, J.-H., Lee, J.-H., Paull, T. T., & Gelmann, E. P. (2013). Functional Activation of ATM by the Prostate Cancer Suppressor NKX3.1. *Cell Reports*, 4(3), 516–529. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.039>
- Bowen, C., Zheng, T., & Gelmann, E. P. (2015). NKX3.1 Suppresses TMPRSS2-ERG Gene Rearrangement and Mediates Repair of Androgen Receptor-Induced DNA Damage. *Cancer Research*, 75(13), 2686–2698. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3387>
- Brase, J. C., Johannes, M., Schlomm, T., Fälth, M., Haese, A., Steuber, T., ... Sültmann,

- H. (2011). Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 128(3), 608–616. <http://doi.org/10.1002/ijc.25376>
- Bryant, R. J., Pawlowski, T., Catto, J. W. F., Marsden, G., Vessella, R. L., Rhees, B., ... Hamdy, F. C. (2012). Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *British Journal of Cancer*, 106(4), 768–774. <http://doi.org/10.1038/bjc.2011.595>
- Cai, Q., Wu, T., Zhang, W., Guo, X., Shang, Z., Jiang, N., ... Niu, Y. (2013). Genetic polymorphisms in glutathione S-transferases P1 (GSTP1) Ile105Val and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 34(6), 3913–3922. <http://doi.org/10.1007/s13277-013-0979-5>
- Cairns, P., Esteller, M., Herman, J. G., Schoenberg, M., Jeronimo, C., Sanchez-Cespedes, M., ... Sidransky, D. (2001). Molecular detection of prostate cancer in urine by GSTP1 hypermethylation. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7(9), 2727–2730. Disponível em <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/7/9/2727.long>
- Cao, D.-L., & Yao, X.-D. (2010). Advances in biomarkers for the early diagnosis of prostate cancer. *Chinese Journal of Cancer*, 29(2), 229–233. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20109357>
- Carroll, P., Albertsen, P. C., Chair, V., Greene, K., Babaian, R. J., Carter, H. B., ... Kebe, K. (2009). Prostate-Specific Antigen Best Practice Statement: 2009 Update Prostate-Specific Antigen Best Practice Statement Update Panel Members: AUA Staff. *American Urological Association*.
- Castro, E., & Eeles, R. (2012). The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian Journal of Andrology*, 14(3), 409–414. <http://doi.org/10.1038/aja.2011.150>
- Cavanagh, H., & Rogers, K. M. A. (2015). The role of BRCA1 and BRCA2 mutations in prostate, pancreatic and stomach cancers. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 13(1), 16. <http://doi.org/10.1186/s13053-015-0038-x>
- Cerveira, N., Ribeiro, F. R., Peixoto, A., Costa, V., Henrique, R., Jerônimo, C., & Teixeira, M. R. (2006). TMPRSS2-ERG Gene Fusion Causing ERG Overexpression Precedes Chromosome Copy Number Changes in Prostate Carcinomas, Paired HGPIN Lesions. *Neoplasia*, 8(10), 826–832. <http://doi.org/10.1593/neo.06427>
- Chappell, W. H., Lehmann, B. D., Terrian, D. M., Abrams, S. L., Steelman, L. S., &

- McCubrey, J. A. (2012). p53 expression controls prostate cancer sensitivity to chemotherapy and the MDM2 inhibitor Nutlin-3. *Cell Cycle*, *11*(24), 4579–4588. <http://doi.org/10.4161/cc.22852>
- Chen, P., Zhang, W., Wang, X., Zhao, K., Negi, D. S., Zhuo, L., ... Zhang, X. (2015). Lycopene and Risk of Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine*, *94*(33), e1260. <http://doi.org/10.1097/MD.0000000000001260>
- Chiang, C.-H., Chen, K.-K., Chang, L. S., & Hong, C.-J. (2004). The impact of polymorphism on prostate specific antigen gene on the risk, tumor volume and pathological stage of prostate cancer. *The Journal of Urology*, *171*(4), 1529–1532. <http://doi.org/10.1097/01.ju.0000116538.15995.93>
- Chu, I. M., Hengst, L., & Slingerland, J. M. (2008). The Cdk inhibitor p27 in human cancer: prognostic potential and relevance to anticancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, *8*(4), 253–267. <http://doi.org/10.1038/nrc2347>
- Cicek, M. S., Liu, X., Casey, G., & Witte, J. S. (2005). Role of androgen metabolism genes CYP1B1, PSA/KLK3, and CYP11alpha in prostate cancer risk and aggressiveness. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, *14*(9), 2173–2177. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0215>
- Collin, S. M., Metcalfe, C., Zuccolo, L., Lewis, S. J., Chen, L., Cox, A., ... Martin, R. M. (2009). Association of folate-pathway gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a population-based nested case-control study, systematic review, and meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, *18*(9), 2528–2539. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0223>
- Cornford, P., Bellmunt, J., Bolla, M., Briers, E., De Santis, M., Gross, T., ... Mottet, N. (2016). EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part II: Treatment of Relapsing, Metastatic, and Castration-Resistant Prostate Cancer. *European Urology*. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.002>
- Correa, J. J., & Pow-Sang, J. (2010). Mechanisms of Carcinogenesis in Prostate Cancer. In *Mechanisms of Oncogenesis* (pp. 295–304). Dordrecht: Springer Netherlands. http://doi.org/10.1007/978-90-481-3725-1_21
- Cramer, S. D., Sun, J., Zheng, S. L., Xu, J., & Peehl, D. M. (2008). Association of

- prostate-specific antigen promoter genotype with clinical and histopathologic features of prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 17(9), 2451–2457. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0374>
- Cronauer, M. V., Schulz, W. A., Burchardt, T., Ackermann, R., & Burchardt, M. (2004). Inhibition of p53 function diminishes androgen receptor-mediated signaling in prostate cancer cell lines. *Oncogene*, 23(20), 3541–3549. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1207346>
- Dabir, P., Ottosen, P., Høyer, S., & Hamilton-Dutoit, S. (2012). Comparative analysis of three- and two-antibody cocktails to AMACR and basal cell markers for the immunohistochemical diagnosis of prostate carcinoma. *Diagnostic Pathology*, 7(1), 81. <http://doi.org/10.1186/1746-1596-7-81>
- Dahiya, R. (2006). Cancer of the Prostate: Molecular Genetics. In *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <http://doi.org/10.1002/3527600906.mcb.200300162>
- Dang, C. V. (1999). c-Myc Target Genes Involved in Cell Growth, Apoptosis, and Metabolism. *Molecular and Cellular Biology*, 19(1), 1–11. <http://doi.org/10.1128/MCB.19.1.1>
- De Marzo, A. M., Platz, E. A., Sutcliffe, S., Xu, J., Grönberg, H., Drake, C. G., ... Nelson, W. G. (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7(4), 256–269. <http://doi.org/10.1038/nrc2090>
- Deters, L. A., Kim, E. D., Leveillee, R. J., Patel, V. R., Costabile, R. A., Moore, C. R., & Talavera, F. (2015). Benign Prostatic Hypertrophy. Consultado a 29 de Janeiro de 2016, disponível em <http://emedicine.medscape.com/article/437359-overview#a1>
- Dias, J. S. (2016a). Estadiamento do Cancro da Próstata. *Instituto Da Próstata E Incontinência Urinária*. Consultado a 23 de Maio de 2016, disponível em <http://institutodaprostata.com/cancro-da-prostata/estadiamento-do-cancro-da-prostata/>
- Dias, J. S. (2016b). Hiperplasia Benigna da Próstata (Aumento benigno da Próstata). *Instituto Da Próstata E Incontinência Urinária*. Consultado a 4 de Junho de 2016, disponível em <http://institutodaprostata.com/prostata/hiperplasia-benigna-da-prostata-aumento-benigno-da-prostata/>
- Dijkstra, S., Mulders, P. F. A., & Schalken, J. A. (2014). Clinical use of novel urine and

- blood based prostate cancer biomarkers: A review. *Clinical Biochemistry*, 47(10–11), 889–896. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.10.023>
- Direção-Geral da Saúde. (2013). Portugal doenças oncológicas em números – Programa Nacional para as doenças oncológicas. Consultado a 31 de Março de 2016, disponível em <http://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugal-doencas-oncologicas-em-numeros-2013.aspx>
- Dong, X.-Y. (2006). FOXO1A Is a Candidate for the 13q14 Tumor Suppressor Gene Inhibiting Androgen Receptor Signaling in Prostate Cancer. *Cancer Research*, 66(14), 6998–7006. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0411>
- Donninger, H., Vos, M. D., & Clark, G. J. (2007). The RASSF1A tumor suppressor. *Journal of Cell Science*, 120(18), 3163–3172. <http://doi.org/10.1242/jcs.010389>
- Durães, J., Marques, J. N., Salgado, L., Pinheiro, L. C., Costa, L., Cunha, M. F. X. da, ... Reis, M. (2013). Recomendações Clínicas no Tratamento do Carcinoma da Próstata. *Sociedade Portuguesa de Oncologia*. Disponível em <http://www.sponcologia.pt/fotos/editor2/recomendacoes-clinicas.pdf>
- Dusinska, M., Staruchova, M., Horska, A., Smolkova, B., Collins, A., Bonassi, S., & Volkovova, K. (2012). Are glutathione S transferases involved in DNA damage signalling? Interactions with DNA damage and repair revealed from molecular epidemiology studies. *Mutation Research*, 736(1–2), 130–137. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.03.003>
- Ecke, T. H., Schlechte, H. H., Schiemenz, K., Sachs, M. D., Lenk, S. V, Rudolph, B. D., & Loening, S. A. (2010). TP53 gene mutations in prostate cancer progression. *Anticancer Research*, 30(5), 1579–1586. Disponível em <http://ar.iiarjournals.org/content/30/5/1579.long>
- El-Bahesh, E., Finianos, A., Alfaraj, A., & Aragon-Ching, J. B. (2015). Drug therapies for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Future Oncology*, 11(17), 2395–2403. <http://doi.org/10.2217/fon.15.168>
- Emami, N., & Diamandis, E. P. (2008). Utility of Kallikrein-Related Peptidases (KLKs) as Cancer Biomarkers. *Clinical Chemistry*, 54(10), 1600–1607. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2008.105189>
- Endzeliņš, E., Melne, V., Kalniņa, Z., Lietuvietis, V., Riekstiņa, U., Llorente, A., & Linē, A. (2016). Diagnostic, prognostic and predictive value of cell-free miRNAs in prostate cancer: a systematic review. *Molecular Cancer*, 15(1), 41. <http://doi.org/10.1186/s12943-016-0523-5>

- Esteller, M. (2008). Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(11), 1148–1159. <http://doi.org/10.1056/NEJMra072067>
- Ferlay, J., Soerjomataram I, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... Bray, F. (2014). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 136. <http://doi.org/10.1002/ijc.29210>
- Fine, S. W., Amin, M. B., Berney, D. M., Bjartell, A., Egevad, L., Epstein, J. I., ... Stief, C. (2012). A Contemporary Update on Pathology Reporting for Prostate Cancer: Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. *European Urology*, 62(1), 20–39. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.02.055>
- Fine, S. W., & Mehra, R. (2015). Anatomy of the Prostate Revisited: Implications for Prostate Biopsy and Zonal Origins of Prostate Cancer. In *Genitourinary Pathology* (pp. 3–12). New York, NY: Springer New York. http://doi.org/10.1007/978-1-4939-2044-0_1
- Fleshman, R., & Maclennan, G. (2005). Immunohistochemical Markers in the Diagnosis of Prostate Cancer. *The Journal of Urology*, 173(5), 1759–1759. <http://doi.org/10.1097/01.ju.0000159842.20721.f3>
- Fu, L.-J., Ding, Y.-B., Wu, L.-X., Wen, C.-J., Qu, Q., Zhang, X., & Zhou, H.-H. (2014). The Effects of Lycopene on the Methylation of the GSTP1 Promoter and Global Methylation in Prostatic Cancer Cell Lines PC3 and LNCaP. *International Journal of Endocrinology*, 2014, 1–9. <http://doi.org/10.1155/2014/620165>
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2006). Male Reproductive System. In *Color textbook of Histology* (3rd ed., pp. 489–510). Saunders.
- Genetics Home Reference. (2016). MTHFR gene. Consultado a 28 de Outubro de 2016, disponível em <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MTHFR#location>
- Gonzalzo, M. L., & Isaacs, W. B. (2003). Molecular Pathways to Prostate Cancer. *The Journal of Urology*, 170(6), 2444–2452. <http://doi.org/10.1097/01.ju.0000085381.20139.b6>
- Gsur, A., Preyer, M., Haidinger, G., Zidek, T., Madersbacher, S., Schatzl, G., ... Micksche, M. (2002). Polymorphic CAG repeats in the androgen receptor gene, prostate-specific antigen polymorphism and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, 23(10), 1647–1651. Disponível em <http://carcin.oxfordjournals.org/content/23/10/1647.long>
- Guo, S., Jiang, X., Chen, X., Chen, L., Li, X., & Jia, Y. (2015). The protective effect of

- methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism against prostate cancer risk: Evidence from 23 case-control studies. *Gene*, 565(1), 90–95. <http://doi.org/10.1016/j.gene.2015.03.067>
- Gurel, B., Ali, T. Z., Montgomery, E. A., Begum, S., Hicks, J., Goggins, M., ... De Marzo, A. M. (2010). NKX3.1 as a Marker of Prostatic Origin in Metastatic Tumors. *The American Journal of Surgical Pathology*, 34(8), 1097–1105. <http://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181e6cbf3>
- Gurel, B., Iwata, T., M Koh, C., Jenkins, R. B., Lan, F., Van Dang, C., ... De Marzo, A. M. (2008). Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Modern Pathology*, 21(9), 1156–1167. <http://doi.org/10.1038/modpathol.2008.111>
- Hacking, C., & Maingard, D. J. (2015). Prostate, Gross anatomy. Consultado a 2 de Fevereiro de 2016, disponível em <http://radiopaedia.org/articles/prostate>
- Hameed, O., & Humphrey, P. A. (2005). Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 22(1), 88–104. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16512601>
- Hassan, M. I., Kumar, V., Singh, T. P., & Yadav, S. (2007). Structural Model of Human PSA: A Target for Prostate Cancer Therapy. *Chemical Biology & Drug Design*, 70(3), 261–267. <http://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2007.00553.x>
- Heidenreich, A., Bastian, P. J., Bellmunt, J., Bolla, M., Joniau, S., van der Kwast, T., ... Mottet, N. (2014). EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent—Update 2013. *European Urology*, 65(1), 124–137. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.09.046>
- Hessels, D., & Schalken, J. A. (2013). Urinary biomarkers for prostate cancer: a review. *Asian Journal of Andrology*, 15(3), 333–339. <http://doi.org/10.1038/aja.2013.6>
- Hong, S. K. (2014). Kallikreins as Biomarkers for Prostate Cancer. *BioMed Research International*, 2014, 1–10. <http://doi.org/10.1155/2014/526341>
- Hopkins, T. G., Burns, P. A., & Routledge, M. N. (2007). DNA Methylation of GSTP1 as Biomarker in Diagnosis of Prostate Cancer. *Urology*, 69(1), 11–16. <http://doi.org/10.1016/j.urology.2006.10.008>
- Hosseini, M., Houshmand, M., & Ebrahimi, A. (2011). MTHFR polymorphisms and breast cancer risk. *Archives of Medical Science*, 1, 134–137. <http://doi.org/10.5114/aoms.2011.20618>
- Huncharek, M., Haddock, K. S., Reid, R., & Kupelnick, B. (2010). Smoking as a Risk

- Factor for Prostate Cancer: A Meta-Analysis of 24 Prospective Cohort Studies. *American Journal of Public Health*, 100(4), 693–701. <http://doi.org/10.2105/AJPH.2008.150508>
- Ikonen, T., Matikainen, M., Mononen, N., Hyytinen, E. R., Helin, H. J., Tommola, S., ... Koivisto, P. A. (2001). Association of E-cadherin germ-line alterations with prostate cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7(11), 3465–3471. Disponível em <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/7/11/3465.long>
- Ilic, D., Forbes, K. M., & Hased, C. (2011). Lycopene for the prevention of prostate cancer. In D. Ilic (Ed.), *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <http://doi.org/10.1002/14651858.CD008007.pub2>
- INFARMED. (n.d.-a). Infomed - Detalhes do medicamento - Cabazitaxel. Consultado a 4 de Setembro de 2016, disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/detalhes.php?med_id=53461&dci=Y2FiYXppdGF4ZWw=&nome_comer=&dosagem=&cnpem=&chnm=&forma_farmac=&atc=&disp=&estado_aim=&pesquisa_titular=&cft=&grupo_produto=&pagina=1
- INFARMED. (n.d.-b). Infomed - Detalhes do medicamento - Docetaxel. Consultado a 4 de Setembro de 2016, disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/detalhes.php?med_id=55978&dci=ZG9jZXRheGVs&nome_comer=&dosagem=&cnpem=&chnm=&forma_farmac=&atc=&disp=&estado_aim=&pesquisa_titular=&cft=&grupo_produto=&pagina=1
- Islami, F., Moreira, D. M., Boffetta, P., & Freedland, S. J. (2014). A Systematic Review and Meta-analysis of Tobacco Use and Prostate Cancer Mortality and Incidence in Prospective Cohort Studies. *European Urology*, 66(6), 1054–1064. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.08.059>
- Jesser, C., Mucci, L., Farmer, D., Moon, C., Li, H., Gaziano, J. M., ... Kantoff, P. (2008). Effects of G/A polymorphism, rs266882, in the androgen response element 1 of the PSA gene on prostate cancer risk, survival and circulating PSA levels. *British Journal of Cancer*, 99(10), 1743–1747. <http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604690>
- Johansson, M., Van Guelpen, B., Hultdin, J., Wiklund, F., Adami, H.-O., Bälter, K., ... Stattin, P. (2007). The MTHFR 677C→T polymorphism and risk of prostate cancer: results from the CAPS study. *Cancer Causes & Control*, 18(10), 1169–1174. <http://doi.org/10.1007/s10552-007-9055-z>
- Kalay, E., Ergen, A., Narter, F., Agaçhan, B., Görmüs, U., Yigit, N., & Isbir, T. (2009).

- ARE-I polymorphism on PSA gene in prostate cancer patients of a Turkish population. *Anticancer Research*, 29(4), 1395–1398. Disponível em <http://ar.iiarjournals.org/content/29/4/1395.long>
- Keyes, M., Frcpc, M., Crook, J., Morton, G., Vigneault, E., Usmani, N., ... Frcpc, M. M. (2013). Treatment options for localized prostate cancer Options de traitement du cancer localisé de la prostate Résumé. *Canadian Family Physician*, 59.
- Kheirandish, P., & Chinegwundoh, F. (2011). Ethnic differences in prostate cancer. *British Journal of Cancer*, 105(4), 481–485. <http://doi.org/10.1038/bjc.2011.273>
- Kim, B., & Kim, C. K. (2013). Embryology, Anatomy, and Congenital Anomalies of the Prostate and Seminal Vesicles. In *Abdominal Imaging* (pp. 1797–1812). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/978-3-642-13327-5_214
- Klein, R. J., Hallden, C., Cronin, A. M., Ploner, A., Wiklund, F., Bjartell, A. S., ... Lilja, H. (2010). Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer. *Cancer Prevention Research*, 3(5), 611–619. <http://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-09-0206>
- Kobayashi, L. C., Limburg, H., Miao, Q., Woolcott, C., Bedard, L. L., Massey, T. E., & Aronson, K. J. (2012). Folate intake, alcohol consumption, and the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism: influence on prostate cancer risk and interactions. *Frontiers in Oncology*. <http://doi.org/10.3389/fonc.2012.00100>
- Koh, C. M., Bieberich, C. J., Dang, C. V., Nelson, W. G., Yegnasubramanian, S., & De Marzo, A. M. (2010). MYC and Prostate Cancer. *Genes & Cancer*, 1(6), 617–628. <http://doi.org/10.1177/1947601910379132>
- Kumar, P., Yadav, U., & Rai, V. (2015). Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and breast cancer risk: Evidence for genetic susceptibility. *Meta Gene*, 6, 72–84. <http://doi.org/10.1016/j.mgene.2015.08.008>
- Kuner, R., Brase, J. C., Sülthmann, H., & Wuttig, D. (2013). microRNA biomarkers in body fluids of prostate cancer patients. *Methods*, 59(1), 132–137. <http://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.05.004>
- Lai, J., Kedda, M.-A., Hinze, K., Smith, R. L. G., Yaxley, J., Spurdle, A. B., ... Clements, J. A. (2006). PSA/KLK3 AREI promoter polymorphism alters androgen receptor binding and is associated with prostate cancer susceptibility. *Carcinogenesis*, 28(5), 1032–1039. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgl236>

- Lawrence, M. G., Lai, J., & Clements, J. A. (2010). Kallikreins on Steroids: Structure, Function, and Hormonal Regulation of Prostate-Specific Antigen and the Extended Kallikrein Locus. *Endocrine Reviews*, *31*(4), 407–446. <http://doi.org/10.1210/er.2009-0034>
- Lee, S. W. H., Liong, M. L., Yuen, K. H., & Krieger, J. N. (2014). Acupuncture and immune function in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: A randomized, controlled study. *Complementary Therapies in Medicine*, *22*(6), 965–969. <http://doi.org/10.1016/j.ctim.2014.10.010>
- Lepor, H., & Shore, N. D. (2012). LHRH Agonists for the Treatment of Prostate Cancer: 2012. *Reviews in Urology*, *14*(1–2), 1–12. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3503273/>
- Liew, S.-C., & Gupta, E. Das. (2015). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European Journal of Medical Genetics*, *58*(1), 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.10.004>
- Lin, X., Asgari, K., Putzi, M. J., Gage, W. R., Yu, X., Cornblatt, B. S., ... Nelson, W. G. (2001). Reversal of GSTP1 CpG island hypermethylation and reactivation of pi-class glutathione S-transferase (GSTP1) expression in human prostate cancer cells by treatment with procainamide. *Cancer Research*, *61*(24), 8611–8616. Disponível em <http://cancerres.aacrjournals.org/content/61/24/8611.long>
- López-Cortés, A., Echeverría, C., Oña-Cisneros, F., Sánchez, M. E., Herrera, C., Cabrera-Andrade, A., ... Paz-y-Miño, C. (2015). Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high altitude Ecuadorian mestizo population. *Tumor Biology*, *36*(8), 6451–6461. <http://doi.org/10.1007/s13277-015-3335-0>
- Magistro, G., Wagenlehner, F. M. E., Grabe, M., Weidner, W., Stief, C. G., & Nickel, J. C. (2016). Contemporary Management of Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome. *European Urology*, *69*(2), 286–297. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.08.061>
- Martinez, E. E., Darke, A. K., Tangen, C. M., Goodman, P. J., Fowke, J. H., Klein, E. A., & Abdulkadir, S. A. (2014). A Functional Variant in NKX3.1 Associated with Prostate Cancer Risk in the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Cancer Prevention Research*, *7*(9), 950–957. <http://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0075>

- Matos, T., Martins, L., Conduto, E., Gomes, C., Silva, M., Rocha, M. do C., ... Mendes, L. (2015). Os TDT no cancro da próstata, 19. Disponível em http://www.chln.pt/media/k2/attachments/newstdt/News_TDT_21.pdf
- Medeiros, R., Morais, A., Vasconcelos, A., Costa, S., Pinto, D., Oliveira, J., ... Lopes, C. (2002). Linkage between polymorphisms in the prostate specific antigen ARE1 gene region, prostate cancer risk, and circulating tumor cells. *The Prostate*, 53(1), 88–94. <http://doi.org/10.1002/pros.10135>
- Meeker, A. K., Hicks, J. L., Platz, E. A., March, G. E., Bennett, C. J., Delannoy, M. J., & De Marzo, A. M. (2002). Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. *Cancer Research*, 62(22), 6405–6409. Disponível em <http://cancerres.aacrjournals.org/content/62/22/6405.long>
- Meiers, I., Shanks, J. H., & Bostwick, D. G. (2007). Glutathione S-transferase pi (GSTP1) hypermethylation in prostate cancer: review 2007. *Pathology*, 39(3), 299–304. <http://doi.org/10.1080/00313020701329906>
- Merseburger, A. S., Bellmunt, J., Jenkins, C., Parker, C., & Fitzpatrick, J. M. (2013). Perspectives on Treatment of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *The Oncologist*, 18(5), 558–567. <http://doi.org/10.1634/theoncologist.2012-0478>
- Miller, D. M., Thomas, S. D., Islam, A., Muench, D., & Sedoris, K. (2012). c-Myc and Cancer Metabolism. *Clinical Cancer Research*, 18(20), 5546–5553. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0977>
- Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L., ... Tewari, M. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(30), 10513–10518. <http://doi.org/10.1073/pnas.0804549105>
- Morel, L., & Baron, S. (2012). Mechanisms of Signal Transduction in Prostate Cancer: The Role of PI3-Kinase Pathway in Androgen Action. In *Advances in Rapid Sex-Steroid Action* (pp. 179–192). New York, NY: Springer New York. http://doi.org/10.1007/978-1-4614-1764-4_11
- Mosquera, J.-M., Mehra, R., Regan, M. M., Perner, S., Genega, E. M., Bueti, G., ... Sanda, M. G. (2009). Prevalence of TMPRSS2-ERG Fusion Prostate Cancer among Men Undergoing Prostate Biopsy in the United States. *Clinical Cancer Research*, 15(14), 4706–4711. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-2927>
- Mottet, N., Bellmunt, J., Briers, E., Bolla, M., Bergh, R. C. N., Casteren, N. J., ... Wiegel, T. (2015). Guidelines on Prostate Cancer. *European Association of Urology*.

- Murphy, A. B., Macejko, A., Taylor, A., & Nadler, R. B. (2009). Chronic Prostatitis. *Drugs*, 69(1), 71–84. <http://doi.org/10.2165/00003495-200969010-00005>
- Muruve, N. A. (2013). Prostate Anatomy. Consultado a 19 de Março de 2016, disponível em <http://emedicine.medscape.com/article/1923122-overview#a2>
- Muthuswamy, S., & Agarwal, S. (2016). Do the MTHFR gene polymorphism and Down syndrome pregnancy association stands true? A case–control study of Indian population and meta-analysis. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 17(1), 87–97. <http://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2015.08.003>
- Nakamura, N., Ramaswamy, S., Vazquez, F., Signoretti, S., Loda, M., & Sellers, W. R. (2000). Forkhead transcription factors are critical effectors of cell death and cell cycle arrest downstream of PTEN. *Molecular and Cellular Biology*, 20(23), 8969–8982. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86551/>
- Nakayama, M., Gonzalgo, M. L., Yegnasubramanian, S., Lin, X., De Marzo, A. M., & Nelson, W. G. (2004). GSTP1 CpG island hypermethylation as a molecular biomarker for prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 91(3), 540–552. <http://doi.org/10.1002/jcb.10740>
- National Cancer Institute. (2012). What you need to know about prostate câncer. Disponível em <http://www.cancer.gov/publications/patient-education/prostate.pdf>
- NCBI. (2016). MTHFR metileno tetrahidrofolato redutase [Homo sapiens (humanos)] - Gene - NCBI. Consultado a 28 de Outubro de 2016, disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4524>
- Nelson, W. G., De Marzo, A. M., & Isaacs, W. B. (2003). Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 349(4), 366–381. <http://doi.org/10.1056/NEJMra021562>
- Nicastro, H., & Dunn, B. (2013). Selenium and Prostate Cancer Prevention: Insights from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Nutrients*, 5(4), 1122–1148. <http://doi.org/10.3390/nu5041122>
- Ntais, C., Polycarpou, A., & Ioannidis, J. P. A. (2005). Association of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14(1), 176–181. Disponível em <http://cebp.aacrjournals.org/content/14/1/176.long>
- Nunes, P., Pimentel, F. L., Pina, F., & Rolo, F. (2010). Registo nacional do cancro da próstata, em Portugal – ReNaCaP. *Acta Urológica* 3, 39–45. Disponível em

- <http://www.apurologia.pt/acta/3-2010/renacap.pdf>
- Olsen, J. R., Azeem, W., Hellem, M. R., Marvyin, K., Hua, Y., Qu, Y., ... Kalland, K.-H. (2016). Context dependent regulatory patterns of the androgen receptor and androgen receptor target genes. *BMC Cancer*, 16(1), 377. <http://doi.org/10.1186/s12885-016-2453-4>
- Orbell, S., Schneider, H., Esbitt, S., Gonzalez, J. S., Gonzalez, J. S., Shreck, E., ... Turner, J. R. (2013). Homocysteine. In *Encyclopedia of Behavioral Medicine* (pp. 979–980). New York, NY: Springer New York. http://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9_1268
- Ovalle, W., & Nahirney, P. C. (2013). Male Reproductive System. In *Netter's Essencial Histology* (2nd ed., pp. 381–402). Saunders.
- Padmanabhan, A., Rao, V., De Marzo, A. M., & Bieberich, C. J. (2016). Regulating NKX3.1 stability and function: Post-translational modifications and structural determinants. *The Prostate*, 76(6), 523–533. <http://doi.org/10.1002/pros.23144>
- Paner, G. P., Luthringer, D. J., & Amin, M. B. (2008). CAP Laboratory Improvement Programs Best Practice in Diagnostic Immunohistochemistry Prostate Carcinoma and Its Mimics in Needle Core Biopsies. *Arch Pathol Lab Med—VolArch Pathol Lab Med*, 132(132), 1388–1396.
- Parker, C., Gillissen, S., Heidenreich, A., & Horwich, A. (2015). Cancer of the prostate: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 26(suppl 5), v69–v77. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdv222>
- Parsons, J. K., Nelson, C. P., Gage, W. R., Nelson, W. G., Kensler, T. W., & De Marzo, A. M. (2001). GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. *The Prostate*, 49(1), 30–37. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11550208>
- Patrício, A. A. J. (2015). Cancro da Próstata informação ao público. Consultado a 26 de Janeiro de 2016, disponível em http://www.apurologia.pt/publico/frameset.htm?http://www.apurologia.pt/publico/cancro_da_prostata.htm
- Penney, K. L., Schumacher, F. R., Kraft, P., Mucci, L. A., Sesso, H. D., Ma, J., ... Hsu, S. I. (2011). Association of KLK3 (PSA) genetic variants with prostate cancer risk and PSA levels. *Carcinogenesis*, 32(6), 853–859. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgr050>
- Perner, S., Schmidt, F. H., Hofer, M. D., Kuefer, R., & Rubin, M. (2007). Die TMPRSS2-

- ETS-Genfusion beim Prostatakarzinom. *Der Urologe*, 46(7), 754–760.
<http://doi.org/10.1007/s00120-007-1347-0>
- Prensner, J. R., Rubin, M. A., Wei, J. T., & Chinnaiyan, A. M. (2012). Beyond PSA: The Next Generation of Prostate Cancer Biomarkers. *Science Translational Medicine*, 4(127), 127rv3-127rv3. <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003180>
- Prostate Cancer Foundation. (2015). Living with prostate câncer – Staging the disease. Consultado a 2 de Abril de 2016, disponível em http://www.pcf.org/site/c.leJRIROrEpH/b.5835079/k.FF5F/Staging_the_Disease.htm
- Qadri, Q., Sameer, A. S., Shah, Z. A., Hamid, A., Alam, S., Manzoor, S., & Siddiqi, M. A. (2011). Genetic polymorphism of the glutathione-S-transferase P1 gene (GSTP1) and susceptibility to prostate cancer in the Kashmiri population. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 10(4), 3038–3045.
<http://doi.org/10.4238/2011.December.6.4>
- Queisser, A., Hagedorn, S. A., Braun, M., Vogel, W., Duensing, S., & Perner, S. (2015). Comparison of different prostatic markers in lymph node and distant metastases of prostate cancer. *Modern Pathology*, 28(1), 138–145.
<http://doi.org/10.1038/modpathol.2014.77>
- Rao, A., Chang, B.-L. i, Hawkins, G., Hu, J. J., Rosser, C. J., Hall, M. C., ... Cramer, S. D. (2003). Analysis of G/A polymorphism in the androgen response element I of the PSA gene and its interactions with the androgen receptor polymorphisms. *Urology*, 61(4), 864–869. [http://doi.org/10.1016/S0090-4295\(02\)02414-7](http://doi.org/10.1016/S0090-4295(02)02414-7)
- Rasool R, N. S. (2015). MTHFR C677T Polymorphism and Risk of Ischemic Stroke in Kashmiri Population. *Hereditary Genetics*, 4(3). <http://doi.org/10.4172/2161-1041.1000155>
- Reis, J. P. dos, Ferraz, J., Varela, J., & Romão, A. (2006). Diagnóstico Precoce do Carcinoma da Próstata. *Acta Urológica* 23 (2), 77–83. Disponível em <http://www.apurologia.pt/acta/2-2006/diag-prec-cp.pdf>
- Ren, G., Baritaki, S., Marathe, H., Feng, J., Park, S., Beach, S., ... Yeung, K. C. (2012). Polycomb Protein EZH2 Regulates Tumor Invasion via the Transcriptional Repression of the Metastasis Suppressor RKIP in Breast and Prostate Cancer. *Cancer Research*, 72(12), 3091–3104. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3546>
- Ricci, F., Buzzatti, G., Rubagotti, A., & Boccardo, F. (2014). Safety of antiandrogen

- therapy for treating prostate cancer. *Expert Opinion on Drug Safety*, 13(11), 1483–1499. <http://doi.org/10.1517/14740338.2014.966686>
- Rick, F. G., Block, N. L., & Schally, A. V. (2013). Agonists of luteinizing hormone-releasing hormone in prostate cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 14(16), 2237–2247. <http://doi.org/10.1517/14656566.2013.834328>
- Rivlin, N., Brosh, R., Oren, M., & Rotter, V. (2011). Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis. *Genes & Cancer*, 2(4), 466–474. <http://doi.org/10.1177/1947601911408889>
- Riyach, O., Ahsaini, M., Kharbach, Y., Bounoual, M., Tazi, M., El Ammari, J., ... Farih, M. (2014). Bilateral ureteral obstruction revealing a benign prostatic hypertrophy: a case report and review of the literature. *Journal of Medical Case Reports*, 8(1), 42. <http://doi.org/10.1186/1752-1947-8-42>
- Robbins, C. M., Hernandez, W., Ahaghotu, C., Bennett, J., Hoke, G., Mason, T., ... Kittles, R. A. (2008). Association of HPC2/ELAC2 and RNASEL non-synonymous variants with prostate cancer risk in African American familial and sporadic cases. *The Prostate*, 68(16), 1790–1797. <http://doi.org/10.1002/pros.20841>
- Rodriguez, S., Al-Ghamdi, O. A., Burrows, K., Guthrie, P. A. I., Lane, J. A., Davis, M., ... Day, I. N. M. (2013). Very Low PSA Concentrations and Deletions of the KLK3 Gene. *Clinical Chemistry*, 59(1), 234–244. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2012.192815>
- Rohrmann, S., Linseisen, J., Allen, N., Bueno-de-Mesquita, H. B., Johnsen, N. F., Tjønneland, A., ... Key, T. J. (2013). Smoking and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *British Journal of Cancer*, 108(3), 708–714. <http://doi.org/10.1038/bjc.2012.520>
- Saad, F., & Miller, K. (2014). Treatment options in castration-resistant prostate cancer: Current therapies and emerging docetaxel-based regimens. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 32(2), 70–79. <http://doi.org/10.1016/j.urolonc.2013.01.005>
- Safarinejad, M. R., Shafiei, N., & Safarinejad, S. H. (2011). Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 14(2), 105–113. <http://doi.org/10.1038/pcan.2010.54>
- Sah, V. K., Wang, L., Min, X., Feng, Z., Rizal, R., Li, L., ... Li, H. (2015). Multiparametric MR imaging in diagnosis of chronic prostatitis and its

- differentiation from prostate cancer. *Radiology of Infectious Diseases*, 1(2), 70–77. <http://doi.org/10.1016/j.jrid.2015.02.004>
- Salido Guadarrama, A., Morales Montor, J., Rangel Escareno, C., Langley, E., Peralta Zaragoza, O., Cruz Colin, J., & Rodriguez Dorantes, M. (2016). Urinary microRNA-based signature improves accuracy of detection of clinically relevant prostate cancer within the prostate-specific antigen grey zone. *Molecular Medicine Reports*. <http://doi.org/10.3892/mmr.2016.5095>
- Samzadeh, M., Hasanzad, M., Jamaldini, S. H., Haghdoost, A. A., Afshari, M., & Ziaee, S. A. M. (2012). Association of G/A polymorphism, rs266882, in AREI region of the prostate-specific antigen gene with prostate cancer risk and clinicopathological features. *Urology Journal*, 9(4), 691–699. Disponível em <http://www.urologyjournal.org/index.php/uj/article/view/1801/692>
- Saraon, P., Jarvi, K., & Diamandis, E. P. (2011). Molecular Alterations during Progression of Prostate Cancer to Androgen Independence. *Clinical Chemistry*, 57(10), 1366–1375. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2011.165977>
- Savblom, C., Hallden, C., Cronin, A. M., Sall, T., Savage, C., Vertosick, E. A., ... Lilja, H. (2014). Genetic Variation in KLK2 and KLK3 Is Associated with Concentrations of hK2 and PSA in Serum and Seminal Plasma in Young Men. *Clinical Chemistry*, 60(3), 490–499. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2013.211219>
- Schatzl, G., Marberger, M., Remzi, M., Grösser, P., Unterlechner, J., Haidinger, G., ... Gsur, A. (2005). Polymorphism in ARE-I region of prostate-specific antigen gene associated with low serum testosterone level and high-grade prostate cancer. *Urology*, 65(6), 1141–1145. <http://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.019>
- Schnekenburger, M., Karius, T., & Diederich, M. (2014). Regulation of epigenetic traits of the glutathione S-transferase P1 gene: from detoxification toward cancer prevention and diagnosis. *Frontiers in Pharmacology*, 5. <http://doi.org/10.3389/fphar.2014.00170>
- Schunke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., & Wesker, K. (2013). *Prometheus, Atlas de Anatomia: órgãos internos* (2ª ed). Guanabara Koogan.
- Severi, G., Hayes, V. M., Neufing, P., Padilla, E. J. D., Tilley, W. D., Eggleton, S. A., ... Giles, G. G. (2006). Variants in the prostate-specific antigen (PSA) gene and prostate cancer risk, survival, and circulating PSA. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 15(6), 1142–1147.

<http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0984>

- Shah, R. B., & Zhou, M. (2012). Anatomy and Normal Histology of the Prostate Pertinent to Biopsy Practice. In *Prostate Biopsy Interpretation: An Illustrated Guide* (pp. 1–10). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/978-3-642-21369-4_1
- Shariat, S. F., Canto, E. I., Kattan, M. W., & Slawin, K. M. (2004). Beyond prostate-specific antigen: new serologic biomarkers for improved diagnosis and management of prostate cancer. *Reviews in Urology*, 6(2), 58–72. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1472815/>
- Shen, L., Cui, Liang, Pang, & Liu. (2013). Update of research on the role of EZH2 in cancer progression. *OncoTargets and Therapy*, 321. <http://doi.org/10.2147/OTT.S42453>
- Shi, J., Yin, X., Xu, R., Wang, Y., Jin, L., & Gao, W. (2014). Clinical application of contrast enhanced ultrasound to diagnose benign prostatic hyperplasia. *Diagnostic Pathology*, 9(1), 133. <http://doi.org/10.1186/1746-1596-9-133>
- Shin, Y. J., & Kim, J.-H. (2012). The Role of EZH2 in the Regulation of the Activity of Matrix Metalloproteinases in Prostate Cancer Cells. *PLoS ONE*, 7(1), e30393. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0030393>
- Shiran, M. S., Tan, G. C., Sabariah, A. R., Rampal, L., & Phang, K. S. (2007). p63 as a complimentary basal cell specific marker to high molecular weight-cytokeratin in distinguishing prostatic carcinoma from benign prostatic lesions. *The Medical Journal of Malaysia*, 62(1), 36–39. Disponível em http://www.e-mjm.org/2007/v62n1/Prostatic_Carcinoma.pdf
- Shukla, S., Bhaskaran, N., MacLennan, G. T., & Gupta, S. (2013). Deregulation of FoxO3a accelerates prostate cancer progression in TRAMP mice. *The Prostate*, 73(14), 1507–1517. <http://doi.org/10.1002/pros.22698>
- Shukla, S., Shukla, M., MacLennan, G. T., Fu, P., & Gupta, S. (2009). Deregulation of FOXO3A during prostate cancer progression. *International Journal of Oncology*, 34(6), 1613–1620. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2683383/>
- Sivoňová, M., Waczulíková, I., Dobrota, D., Matáková, T., Hatok, J., Račay, P., & Kliment, J. (2009). Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1, T1, P1 and the risk of prostate cancer: a case-control study. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 28(1), 32. <http://doi.org/10.1186/1756-9966-28-32>

- So, A., Chin, J., Fleshner, N., & Saad, F. (2012). Management of skeletal-related events in patients with advanced prostate cancer and bone metastases: Incorporating new agents into clinical practice. *Canadian Urological Association Journal = Journal de l'Association Des Urologues Du Canada*, 6(6), 465–470. <http://doi.org/10.5489/cuaj.12149>
- Song, J., Park, H., & Lee, G. (2013). Contribution of genetic variation rs266882 to prostate-specific antigen levels in healthy controls with serum PSA below 2.0 ng/ml. *Biochemical Genetics*, 51(3–4), 264–274. <http://doi.org/10.1007/s10528-012-9561-x>
- Soni, A., Bansal, A., Mishra, A. K., Batra, J., Singh, L. C., Chakraborty, A., ... Saxena, S. (2012). Association of androgen receptor, prostate-specific antigen, and CYP19 gene polymorphisms with prostate carcinoma and benign prostatic hyperplasia in a north Indian population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 16(8), 835–840. <http://doi.org/10.1089/gtmb.2011.0322>
- Sousa, J. A. de, & Lopes, T. (2007). Cancro da próstata tudo o que precisa de saber. *Sociedade Portuguesa de Oncologia*. Disponível em <http://www.sponcologia.pt/wp-content/uploads/2013/01/LivroCancroProstataSpread.pdf>
- Standring, S., Borley, N. R., Collins, P., Crossman, A. R., Gatzoulis, M. A., & Healy, J. C. (2008). Bladder, prostate and urethra. In *Gray's Anatomy* (40th ed., pp. 1245–1259). Elsevier.
- Suzuki, T., Matsuo, K., Hirose, K., Hiraki, A., Kawase, T., Watanabe, M., ... Tajima, K. (2008). One-carbon metabolism-related gene polymorphisms and risk of breast cancer. *Carcinogenesis*, 29(2), 356–362. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgm295>
- Tan, H.-L., Sood, A., Rahimi, H. A., Wang, W., Gupta, N., Hicks, J., ... Lotan, T. L. (2014). Rb Loss Is Characteristic of Prostatic Small Cell Neuroendocrine Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 20(4), 890–903. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1982>
- Thangapazham, R., Saenz, F., Katta, S., Mohamed, A. A., Tan, S.-H., Petrovics, G., ... Dobi, A. (2014). Loss of the NKX3.1 tumorsuppressor promotes the TMPRSS2-ERG fusion gene expression in prostate cancer. *BMC Cancer*, 14(1), 16. <http://doi.org/10.1186/1471-2407-14-16>
- Tomlins, S. A., Aubin, S. M. J., Siddiqui, J., Lonigro, R. J., Sefton-Miller, L., Miick, S., ... Chinnaiyan, A. M. (2011). Urine TMPRSS2:ERG Fusion Transcript Stratifies Prostate Cancer Risk in Men with Elevated Serum PSA. *Science Translational*

- Medicine*, 3(94), 94ra72-94ra72. <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001970>
- Tosoian, J. J., Ross, A. E., Sokoll, L. J., Partin, A. W., & Pavlovich, C. P. (2016). Urinary Biomarkers for Prostate Cancer. *Urologic Clinics of North America*, 43(1), 17–38. <http://doi.org/10.1016/j.ucl.2015.08.003>
- Ulmert, D., O'Brien, M. F., Bjartell, A. S., & Lilja, H. (2009). Prostate kallikrein markers in diagnosis, risk stratification and prognosis. *Nature Reviews Urology*, 6(7), 384–391. <http://doi.org/10.1038/nrurol.2009.123>
- Umbreit, E., Shimko, M., & Gettman, M. (2012). Prostate Anatomy and Prostate Cancer Screening, Diagnosis, Staging, and Prevention. In *Robotic Radiosurgery. Treating Prostate Cancer and Related Genitourinary Applications* (pp. 29–40). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/978-3-642-11495-3_4
- Vander Griend, D. J., Litvinov, I. V., & Isaacs, J. T. (2014). Conversion of Androgen Receptor Signaling From a Growth Suppressor in Normal Prostate Epithelial Cells to an Oncogene in Prostate Cancer Cells Involves a Gain of Function in c-Myc Regulation. *International Journal of Biological Sciences*, 10(6), 627–642. <http://doi.org/10.7150/ijbs.8756>
- Vickers, A. J., Cronin, A. M., Björk, T., Manjer, J., Nilsson, P. M., Dahlin, A., ... Lilja, H. (2010). Prostate specific antigen concentration at age 60 and death or metastasis from prostate cancer: case-control study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 341, c4521. <http://doi.org/10.1136/bmj.c4521>
- Vinceti, M., Dennert, G., Crespi, C. M., Zwahlen, M., Brinkman, M., Zeegers, M. P., ... Del Giovane, C. (2014). Selenium for preventing cancer. In M. Vinceti (Ed.), *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <http://doi.org/10.1002/14651858.CD005195.pub3>
- Wahlström, T., & Arsenian Henriksson, M. (2015). Impact of MYC in regulation of tumor cell metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1849(5), 563–569. <http://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.004>
- Wang, D., & Tindall, D. J. (2011). Androgen Action During Prostate Carcinogenesis (pp. 25–44). http://doi.org/10.1007/978-1-61779-243-4_2
- Wang, L.-Z., Sato, K., Tsuchiya, N., Yu, J.-G., Ohyama, C., Satoh, S., ... Kato, T. (2003). Polymorphisms in prostate-specific antigen (PSA) gene, risk of prostate cancer, and serum PSA levels in Japanese population. *Cancer Letters*, 202(1), 53–59. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2003.08.001>

- Wei, J. T. (2015). Urinary biomarkers for prostate cancer. *Current Opinion in Urology*, 25(1), 77–82. <http://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000133>
- Weizmann Institute of Science. (2016a). GSTM1 Gene (Protein Coding). Consultado a 24 de Setembro de 2016, disponível em <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1>
- Weizmann Institute of Science. (2016b). GSTP1 Gene (Protein Coding). Consultado a 26 de Setembro de 2016, disponível em <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTP1>
- Weizmann Institute of Science. (2016c). GSTT1 Gene (Protein Coding). Consultado a 25 de Setembro de 2016, disponível em <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1>
- Weizmann Institute of Science. (2016d). KLK3 Gene (Protein Coding). Consultado a 18 de Setembro de 2016, disponível em <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=KLK3>
- World Health Organization. (2012). Prostate Cancer. Consultado a 30 de Abril de 2016, disponível em <http://eco.iarc.fr/eucan/CancerOne.aspx?Cancer=29&Gender=1>
- Xu, J., Zheng, S. L., Chang, B., Smith, J. R., Carpten, J. D., Stine, O. C., ... Isaacs, W. B. (2001). Linkage of prostate cancer susceptibility loci to chromosome 1. *Human Genetics*, 108(4), 335–345. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11379880>
- Xu, J., Zheng, S. L., Komiya, A., Mychaleckyj, J. C., Isaacs, S. D., Hu, J. J., ... Meyers, D. A. (2002). Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nature Genetics*, 32(2), 321–325. <http://doi.org/10.1038/ng994>
- Xue, W., Irvine, R. A., Yu, M. C., Ross, R. K., Coetzee, G. A., & Ingles, S. A. (2000). Susceptibility to prostate cancer: interaction between genotypes at the androgen receptor and prostate-specific antigen loci. *Cancer Research*, 60(4), 839–841. Disponível em <http://cancerres.aacrjournals.org/content/60/4/839.long>
- Xue, W. M., Coetzee, G. A., Ross, R. K., Irvine, R., Kolonel, L., Henderson, B. E., & Ingles, S. A. (2001). Genetic determinants of serum prostate-specific antigen levels in healthy men from a multiethnic cohort. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 10(6), 575–579. Disponível em <http://cebp.aacrjournals.org/content/10/6/575.long>

- Yadav, U., Kumar, P., & Rai, V. (2015). Role of MTHFR A1298C gene polymorphism in the etiology of prostate cancer: A systematic review and updated meta-analysis. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. <http://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2015.06.005>
- Yamaguchi, H., & Hung, M.-C. (2014). Regulation and Role of EZH2 in Cancer. *Cancer Research and Treatment*, 46(3), 209–222. <http://doi.org/10.4143/crt.2014.46.3.209>
- Yang, M., & Park, J. Y. (2012). DNA Methylation in Promoter Region as Biomarkers in Prostate Cancer (pp. 67–109). http://doi.org/10.1007/978-1-61779-612-8_5
- Yu, Z., Li, Z., Cai, B., Wang, Z., Gan, W., Chen, H., ... Li, H. (2013). Association between the GSTP1 Ile105Val polymorphism and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biology : The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 34(3), 1855–1863. <http://doi.org/10.1007/s13277-013-0727-x>
- Zha, S., Gage, W. R., Sauvageot, J., Saria, E. A., Putzi, M. J., Ewing, C. M., ... Isaacs, W. B. (2001). Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. *Cancer Research*, 61(24), 8617–8623. Disponível em <http://cancerres.aacrjournals.org/content/61/24/8617.long>
- Zhou, T.-B., Drummen, G. P. C., Jiang, Z.-P., & Qin, Y.-H. (2014). GSTT1 Polymorphism and the Risk of Developing Prostate Cancer. *American Journal of Epidemiology*, 180(1), 1–10. <http://doi.org/10.1093/aje/kwu112>

Anexos

Anexo I – Classificação de Gleason (2005) segundo a Sociedade Internacional de Patologia Urológica (ISUP) (adaptada de Egevad, Mazzucchelli, & Montironi, 2012).

Os 5 padrões histológicos da classificação de Gleason	
1.	Nódulo circunscrito compacto de ácinos de tamanho médio, uniformes, separados, de forma arredondada ou oval.
2.	Idêntica ao padrão 1, circunscrito, contudo nos limites do nódulo de tumor pode haver infiltração mínima; as glândulas são menos organizadas e não são tanto uniformes como no padrão 1.
3.	As unidades glandulares são discretas: normalmente glândulas menores do que nos padrões 1 ou 2; ocorre infiltração entre e nos ácinos não neoplásicos; marcada variação de tamanho e forma; pequenos nódulos de tumor cribriformes e circunscritos.
4.	As glândulas microacinares condensadas são mal definidas, com lúmen deformado; as glândulas grandes cribriformes de limites mal definidos.
5.	Não apresenta qualquer diferenciação glandular, composto por folhetos contínuos, filas ou células individuais; comedocarcinoma com necrose central, rodeada por massas de aspeto papilar ou sólido.

Esta classificação é uma ferramenta importante para determinar o estágio de desenvolvimento do cancro, quanto maior o *score* de Gleason, maior o risco de progressão do cancro com ou sem tratamento (Durães et al., 2013; Fine et al., 2012; Prostate Cancer Foundation, 2015).

Anexo II – Estadiamento do Cancro da Próstata

Inicialmente, realiza-se a análise da extensão e do tamanho do carcinoma, classificando-se em:

TX – Tumor primário não acessível;

T0 – Sem evidência de tumor primário;

T1 – Tumor clinicamente inaparente (não palpável ao toque rectal, nem visualizável por imagiologia);

T1a – Tumor incidental (achado por acaso em material de ressecção transuretral da próstata realizada para tratamento de hiperplasia benigna, presente em menos de 5% do tecido removido);

T1b – Tumor incidental (achado por acaso em material de ressecção transuretral da próstata realizada para tratamento de hiperplasia benigna, presente em mais de 5% do tecido removido);

T1c – Tumor identificado por biópsia prostática (aumento dos níveis de PSA);

T2 – Tumor confinado à próstata (detetável ao toque rectal, visualização imagiológica à ecografia transretal);

T2a – Tumor está confinado a um dos lobos da próstata e não ocupa mais de 50% desse volume;

T2b – Tumor está confinado apenas a um dos lobos da próstata (direito ou esquerdo), mas ocupa mais de 50% desse volume;

T2c – Tumor atinge ambos os lobos da próstata;

T3 – Tumor apresenta uma extensão para além da próstata (pode atingir as vesículas seminais);

T3a – Extensão extraprostática (unilateral ou bilateral);

T3b – Tumor invade as vesículas seminais;

T4 – Tumor fixa-se ou invade estruturas adjacentes, como o esfíncter externo, o reto, a bexiga e a parede da cavidade pélvica;

Quanto ao número de gânglios linfáticos afetados, pode-se descrever os diferentes graus:

NX – Gânglios linfáticos não avaliados;

N0 – Sem metástases ganglionares;

N1 – Metástases em gânglios linfáticos regionais;

A identificação da presença de metástases à distância é essencial para um diagnóstico completo, na maioria dos casos os locais mais atingidos por estas metástases são os ossos, os gânglios linfáticos distantes, os pulmões ou o fígado. A classificação enuncia:

M0 – Sem metástases à distância;

M1 – Metástases à distância (incluindo cadeias ganglionares para além dos gânglios linfáticos não regionais);

M1a - Metástases em gânglios linfáticos não regionais;

M1b – Metástases ósseas;

M1c – Metástases noutros órgãos (com ou sem metástases ósseas).

Com recurso a definições apresentadas anteriormente pode definir-se o estágio em que o doente se encontra recorrendo à seguinte classificação (Dias, 2016; Durães et al., 2013; Prostate Cancer Foundation, 2015):

Classificação do estadiamento do cancro da próstata (retirada de Durães et al., 2013).

Estádio	T	N	M	PSA	"score" de Gleason
I	T1a-c	N0	M0	PSA <10	Gleason ≤ 6
	T2a	N0	M0	PSA <10	Gleason ≤ 6
IIA	T1-2a	N0	M0	PSA X	Gleason X ¹
	T1a-c	N0	M0	PSA <20	Gleason 7
	T1a-c	N0	M0	PSA ≥10 <20	Gleason ≤ 6
IIB	T2a	N0	M0	PSA ≥10 <20	Gleason ≤ 6
	T2a	N0	M0	PSA <20	Gleason 7
	T2b	N0	M0	PSA <20	Gleason ≤ 7
	T2b	N0	M0	PSA X	Gleason X ¹
	T2c	N0	M0	Qualquer PSA	Qualquer Gleason
	T1-2	N0	M0	PSA ≥20	Qualquer Gleason
III	T1-2	N0	M0	Qualquer PSA	Gleason ≥8
	T3a-b	N0	M0	Qualquer PSA	Qualquer Gleason
IV	T4	N0	M0	Qualquer PSA	Qualquer Gleason
	Qualquer T	N1	M0	Qualquer PSA	Qualquer Gleason
	Qualquer T	Qualquer N	M1	Qualquer PSA	Qualquer Gleason

Bibliografia

- Dias, J. S. (2016). Estadiamento do Cancro da Próstata. *Instituto Da Próstata E Incontinência Urinária*. Consultado a 23 de Maio de 2016, disponível em <http://institutodaprostata.com/cancro-da-prostata/estadiamento-do-cancro-da-prostata/>
- Durães, J., Marques, J. N., Salgado, L., Pinheiro, L. C., Costa, L., Cunha, M. F. X. da, ... Reis, M. (2013). Recomendações Clínicas no Tratamento do Carcinoma da Próstata. *Sociedade Portuguesa de Oncologia*. Disponível em <http://www.sponcologia.pt/fotos/editor2/recomendacoes-clinicas.pdf>
- Egevad, L., Mazzucchelli, R., & Montironi, R. (2012). Implications of the International Society of Urological Pathology Modified Gleason Grading System, *136*(4), 426–434. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.5858/arpa.2011-0495-RA>
- Fine, S. W., Amin, M. B., Berney, D. M., Bjartell, A., Egevad, L., Epstein, J. I., ... Stief, C. (2012). A Contemporary Update on Pathology Reporting for Prostate Cancer: Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. *European Urology*, *62*(1), 20–39. <http://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.02.055>
- Prostate Cancer Foundation. (2015). Living with prostate cancer – Staging the disease. Disponível em http://www.pcf.org/site/c.leJRIROrEpH/b.5835079/k.FF5F/Staging_the_Disease.htm