



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO  
ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

**JOSÉ MANUEL DA SILVA OLIVEIRA**

***EFEITO DO TABACO NO DESENVOLVIMENTO E  
PROGRESSÃO DO CANCRO DA PRÓSTATA***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**DRA. MARIANA FREITAS**

**PROF. DOUTORA ANABELA MOTA PINTO**

**10/2009**

## Revisão

# EFEITO DO TABACO NO DESENVOLVIMENTO E PROGRESSÃO DO CANCRO DA PRÓSTATA

José Manuel Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Patologia Geral, Faculdade de Medicina – Universidade de Coimbra (FMUC) – Portugal*

Instituto de Patologia Geral – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra  
Rua Larga  
3004-504 Coimbra, Portugal

## Resumo

As doenças resultantes do tabagismo constituem um dos principais problemas de saúde, sobretudo no que diz respeito às doenças respiratórias, cardiovasculares e neoplásicas, estimando-se cerca de 1 bilião de homens e 250 milhões de mulheres fumadores em todo o mundo. No entanto, permanece por esclarecer a sua acção no cancro da próstata, o qual constitui a neoplasia sólida mais diagnosticada e a segunda causa de morte por cancro nos homens, nos países ocidentais.

Pretende-se sistematizar o conhecimento relativamente à acção do tabaco no desenvolvimento e progressão do cancro da próstata e avaliar de que forma a sua evicção poderá ter um efeito preventivo.

O fumo de cigarro contém mais de 4000 substâncias conhecidas, das quais mais de 60 são carcinogénicas. As mais estudadas são os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), N-nitrosaminas e aminas aromáticas heterocíclicas que parecem estar relacionados com o desenvolvimento da doença através da formação de aductos PAH-DNA e de acções mutagénicas e epigenéticas. Os PAHs também aumentam a expressão das ANP32A e ciclofilina A, também aumentadas em outras neoplasias, aumento da expressão de MMP-9, associado a uma maior capacidade de invasão local e metastização, e aumento da proliferação celular em células da tiróide.

O tabagismo provoca silenciamento de genes supressores tumorais e de enzimas destoxicantes por hipermetilação dos ilhéus CpG das regiões promotoras. Apesar do estado de hipermetilação ser menor nos ex-fumadores, é conhecido que o tabaco também induz hipermetilação de genes de defesas antioxidantes como a glutathione S-transferase (GST) que tem um papel importante na destoxificação de compostos resultantes do fumo como os PAHs. Por outro lado, a diminuição de estrogénios e aumento de testosterona resultante do tabagismo, poderá estar relacionado com um maior risco para o desenvolvimento da doença. Além disso, o tabaco contém níveis significativos de cádmio, um metal pesado implicado também na carcinogénese prostática.

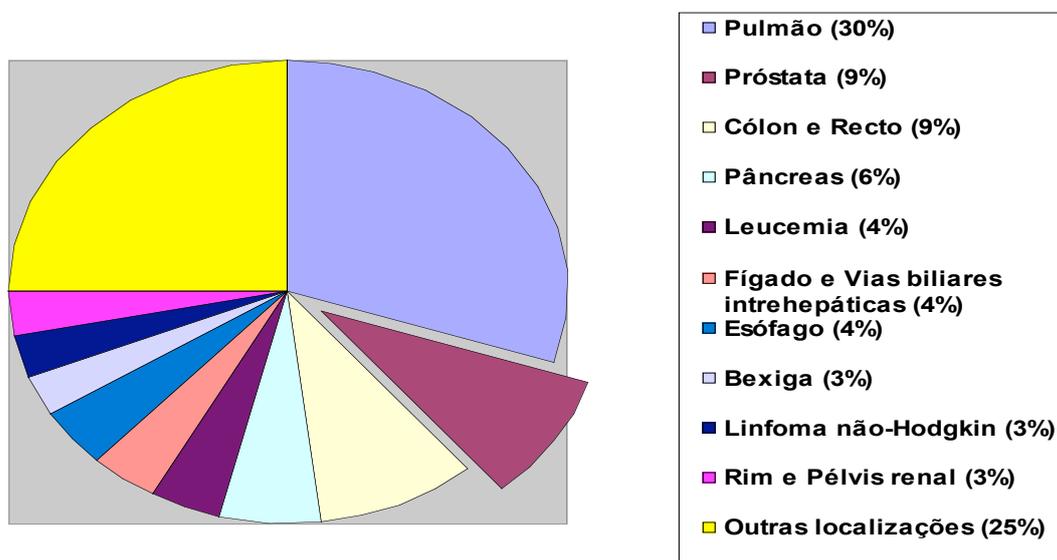
O fumo de tabaco contém agentes oxidantes, aumenta a produção de espécies reactivas de oxigénio, diminui as defesas antioxidantes (diminuição das vitaminas A e C e em menor extensão a GST) e é promotor de inflamação sistémica o que terá provavelmente um papel na etiologia desta doença. Por outro lado, polimorfismos genéticos parecem estar associados a aumento do risco de cancro da próstata em fumadores, como o polimorfismo Ile105Val do gene da GST, o qual está relacionado com uma menor actividade desta enzima. A doença também é mais prevalente em fumadores com o genótipo AA da Manganésio Superóxido Dismutase (MnSOD) e/ou que tenham um genótipo de acetiladores rápidos para a N-acetil-transferase (NAT1).

A relação entre tabagismo e a incidência de cancro da próstata não é clara, no entanto a incidência aumenta em indivíduos que acumulam outros factores de risco. Por outro lado, parece haver relação com maior agressividade da doença, pior prognóstico e mortalidade aumentada.

**Palavras-chave:** Cancro da próstata, tabaco, PAH, aductos de DNA, polimorfismos, stresse oxidativo.

## **Epidemiologia do cancro da próstata**

O cancro da próstata constitui a neoplasia maligna sólida mais diagnosticada e a segunda causa de morte relacionada com o cancro nos homens, nos países ocidentais. De entre todos os tipos de cancro que atingiram os indivíduos do sexo masculino, nos Estados Unidos da América (EUA), de 2001 a 2005, o cancro da próstata apresentou uma incidência de 28% (Jemal et al. 2009). Segundo o mesmo estudo estimava-se para 2009, o aparecimento de 192280 novos casos de cancro da próstata o qual seria responsável por cerca de 27360 mortes nos EUA, correspondentes a 25% da incidência e a 9% da mortalidade por cancro nos homens respectivamente (Jemal et al. 2009). Por outro lado, séries de autópsia revelaram pequenos carcinomas prostáticos em 64% dos homens com idades compreendidas entre os 60 e os 70 anos e estima-se que um em cada seis desenvolverá cancro da próstata invasivo ao longo da sua vida (Sakr et al., 1994; Jemal et al., 2009). Apesar de se tratar de uma doença de elevada mortalidade nos países ocidentais, como os países da União Europeia e EUA (Figura 1, Tabela I) a incidência e a mortalidade por cancro da próstata têm vindo a diminuir ao longo do tempo (Jemal et al. 2009).



**Figura 1** - Mortalidade estimada para o sexo masculino nos EUA em 2009, para os 10 tipos de cancro mais mortais.

Adaptado de Jemal et al. 2009.

**Tabela I** – Evolução da taxa de mortalidade por cancro da próstata ao longo do tempo, ajustada à idade, por 100.000 habitantes nos homens, na União Europeia (UE).

Ano (período de tempo)	Número de casos por 100.000 habitantes
<b>1982</b> (1982-1984)	13,43
<b>1992</b> (1990-1994)	14,92
<b>2002</b>	13,97

Adaptado de Bosetti et al. 2008.

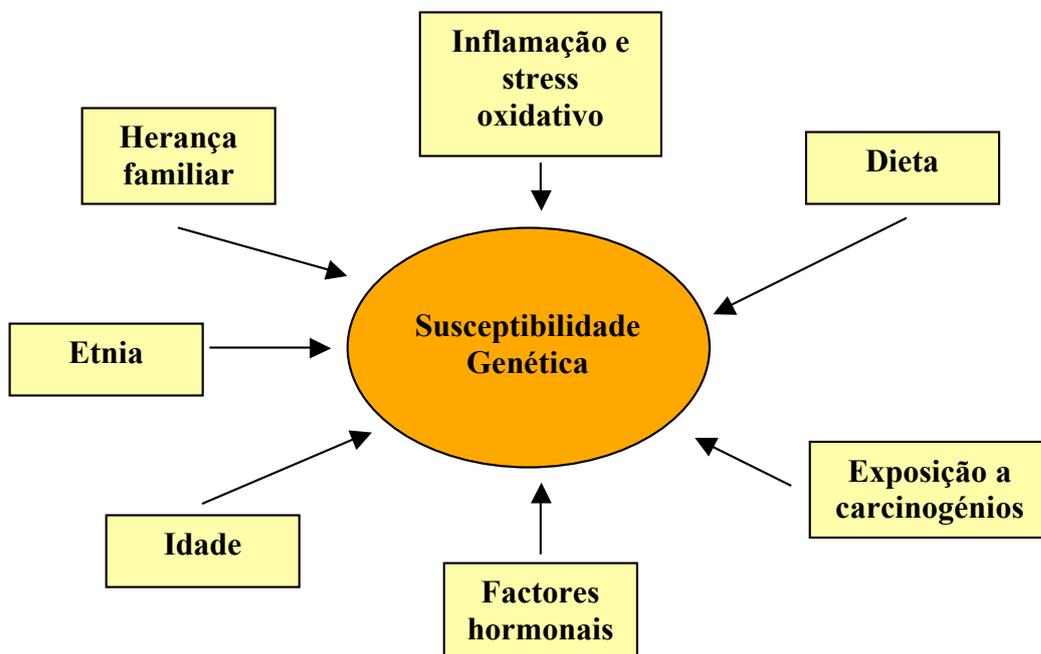
Entre 1982 e 1992, verificou-se um aumento de 11,1% na taxa de mortalidade por cancro da próstata, o que pode estar relacionado com uma melhoria nos métodos de diagnóstico e, consequentemente, com um aumento no número de casos diagnosticados. Por outro lado, considerando o intervalo de tempo de 1992-2002, houve um declínio de 6,4% na mortalidade, o que se relaciona, muito provavelmente, com a melhoria dos métodos de tratamento cirúrgico, da hormonoterapia e radioterapia e com a generalização dos métodos de rastreio através do doseamento sérico do PSA (prostate specific antigen) e toque rectal. Desta forma o diagnóstico precoce da doença, terá contribuído para promover o tratamento atempado do cancro localizado (Bosetti et al. 2008).

## **Etiologia do cancro da próstata**

O processo de carcinogénese da próstata é um processo lento que resulta da acumulação de mutações genéticas ao longo do tempo que conduzem à transformação inicial, progressão do tumor e sua metastização. Dois genes envolvidos são os supressores tumorais p53 e Rb. Mutações do gene p53 podem ocorrer precocemente durante o processo de carcinogénese e estão também frequentemente associadas a metastização e a um fenótipo hormono-independente (Heidenberg et al. 1995; Downing et al. 2003). Por outro lado, a perda de heterozigotia do gene Rb ocorre em pelo menos um terço dos casos de cancro próstata (Cooney et al. 1996). Histologicamente, a maioria destes tipos de cancro são adenocarcinomas (95%) mas, aproximadamente 4% têm origem em células de transição, presumivelmente no urotélio da porção prostática da uretra, sendo que ainda há casos raros com morfologia neuroendócrina. No que diz respeito à sua localização, 70% dos adenocarcinomas têm origem na zona periférica, 15-20% na zona central e 10-15% originam-se na zona de transição. A maior parte é multifocal e heterogénea, clonais ou não-clonais. A invasão local e suas repercussões dependem da localização do tumor primário, sendo que os tumores com origem na zona de transição se disseminam preferencialmente para o colo da bexiga e os da zona periférica para os canais ejaculatórios e vesículas seminais, podendo em qualquer caso ocorrer disseminação através da cápsula e ao longo dos eixos vasculares e nervosos. Outra forma de disseminação é a metastização à distância, um fenómeno ainda pouco compreendido que ocorre preferencialmente no tecido ósseo, muitas vezes sem linfadenopatias significativas (Figura 3). A disseminação das células pode ocorrer através da invasão directa dos vasos linfáticos e venosos dirigindo-se preferencialmente para a porção inferior da coluna lombar. Por outro lado, também é possível que factores tissulares sejam responsáveis pelo crescimento deste tumor nos ossos. Outras localizações para as metástases são também possíveis, entre as mais frequentes, o pulmão, o fígado e a glândula supra-renal.

As causas que estão na base do desenvolvimento desta doença (Figura 2), são reconhecidamente

multifactoriais e incluem a susceptibilidade genética, a história familiar, os factores étnicos, a idade avançada, a exposição a androgénios, a inflamação, o estilo de vida e dieta alimentar, e a exposição a carcinogénios como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e as aminas aromáticas heterocíclicas, em parte também associados a um aumento do stress oxidativo (Cerhan et al. 1999; Hickey et al. 2001; Nelson et al. 2003).



**Figura 2** – Factores de risco para o desenvolvimento do cancro da próstata.

Os factores ambientais são, provavelmente, aqueles que mais contribuem para a maioria dos casos, mesmo nos familiares, com reconhecida susceptibilidade genética. Num estudo realizado em 44788 pares de gémeos, 42% dos casos de cancro da próstata foram considerados de causa hereditária e os restantes, muito provavelmente, devidos à influência de factores ambientais (Lichtenstein et al. 2000). Por outro lado, diferenças na distribuição geográfica e étnica parecem relacionar-se com a incidência e a mortalidade por cancro da próstata, as quais são mais baixas nos países asiáticos e mais elevadas nos países ocidentais, sobretudo nos americanos de origem africana (Afro-Americanos) (Hsing et al. 2000). Estudos epidemiológicos mostram que quando homens asiáticos migram para a América do Norte o risco de desenvolver a doença aumenta significativamente, tornando-se 5 vezes superior em emigrantes japoneses nos EUA. Este facto parece ser devido à

mudança de comportamentos, o que reforça o papel do meio ambiente e estilo de vida na etiologia do cancro da próstata (Kolonel et al.1983; Whittemore et al. 1995). O factor que mais parece contribuir para esta diferença é a dieta. A típica dieta ocidental é rica em gorduras animais e carne sendo pobre em fruta e vegetais enquanto a dieta asiática é rica em vegetais, sobretudo em soja. O consumo aumentado de gordura total, de origem animal e de carnes vermelhas estão associados a um risco acrescido de cancro da próstata, enquanto que o consumo de vegetais parece ser um factor protector (Giovannucci et al. 1993; Gann et al. 1994). Vários compostos presentes naturalmente na alimentação ou administrados como suplementos, nomeadamente, a vitamina A, vitamina E, vitamina C, vitamina D, licopeno, selénio e uma dieta pobre em gorduras podem ter um efeito protector sugerindo um papel importante na quimioprevenção desta doença (Ansari et al. 2002; Tamimiet al. 2002). O efeito protector destes compostos poderá estar relacionado com uma acção antioxidante, nomeadamente, o consumo de tomate está associado a um aumento dos níveis séricos de licopeno. Por outro lado, o consumo de vegetais poderá estar associado a um aumento de sulfurano, o qual induz a acção de enzimas destoxicantes de carcinogénios (Gann et al. 1999; Cohen et al. 2000). No caso das carnes vermelhas não se conhecem quais os compostos responsáveis pela promoção do cancro (apesar de poder estar associado a um aumento de ROS). Contudo, é sabido que quando a carne é cozinhada a temperaturas elevadas, formam-se amins aromáticas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), duas classes de carcinogénios, resultantes da combustão de compostos orgânicos e constituintes do fumo, como do tabaco, também associado a um aumento de risco de cancro (Lijinsky et al. 1964; Gross et al. 1993; Counts et al. 2005). A composição do tabaco em carcinogénios e a actividade biológica adversa de vários dos compostos do tabaco, têm vindo a ser estudadas, nos últimos anos, por vários grupos de investigação, sobretudo desde a publicação, em 1950, de um estudo que concluiu sobre uma maior incidência de cancro do pulmão em fumadores (Wynder et al. 1950). Contudo, a acção do tabaco sobre o desenvolvimento e progressão do cancro da próstata são ainda mal compreendidos.

## **Epidemiologia associada ao tabagismo e seus efeitos na saúde**

Em todo o mundo, cerca de 1 bilhão de homens e 250 milhões de mulheres são fumadores, o que faz do tabagismo a principal causa de morte por factor de risco prevenível (Mackay and Eriksen 2002). No entanto, até à data, o único método comprovadamente eficaz na redução dos riscos associados ao tabagismo é a cessação tabágica. No ano 2000 ocorreram 4,2 milhões de mortes prematuras relacionadas com o tabaco no mundo inteiro, tendo sido responsável por cerca de 90% de todos os cancros do pulmão, 75% dos casos de bronquite crónica e enfisema pulmonar e 25% dos casos de doença cardíaca isquémica. O tabagismo é responsável por 30% das mortes relacionadas com cancro nos países desenvolvidos e a relação entre tabaco e cancro tornou-se, por estas razões, um dos principais alvos de investigação na epidemiologia desta doença (Mackay and Eriksen 2002). Os efeitos do tabaco no sistema respiratório são já bem conhecidos, sobretudo na etiologia da doença pulmonar obstructiva crónica (DPOC) e do cancro do pulmão. O tabagismo é também um factor de risco comprovado para o cancro dos brônquios, laringe, cavidade oral, esófago, bexiga, rim, pâncreas, endométrio e estômago (Kupper et al. 2002). No entanto, a sua acção ao nível da carcinogénese da próstata, permanece por esclarecer. Desta forma a tentativa de compreensão da toxicidade do tabaco, ao nível da carcinogénese, nomeadamente no que diz respeito ao cancro da próstata, tem ganho cada vez maior interesse.

Como já referido, apesar de elevadas, a incidência e mortalidade do cancro da próstata têm vindo a diminuir, sendo que a mortalidade é apenas suplantada pela do cancro do pulmão, pelo que importa compreender melhor a sua etiologia, nomeadamente a sua relação com o tabagismo (Jemal et al. 2009). Para isso é importante conhecer a composição do tabaco e identificar os compostos que poderão estar implicados na carcinogénese.

## **Composição do tabaco e seus compostos carcinogénicos**

O fumo de tabaco é uma mistura complexa de compostos químicos cuja composição depende essencialmente da mistura de tabaco usada e tipos de aditivos, do papel do cigarro, do tipo e eficiência do filtro e da forma como é fumado podendo ainda existir resíduos de pesticidas, fertilizantes ou agentes do processamento (Counts et al. 2005). Esta mistura é um aerossol composto de uma fase sólida e uma líquida, particuladas numa fase gasosa que contém cerca de  $10^{10}$  partículas/ml (Hecht 1999). A fase particulada inclui nicotina, alcatrão, benzeno, benzo(a)pireno e metais pesados entre os mais importantes, e a fase gasosa é composta, entre outros, de monóxido de carbono, amónia, formaldeído e compostos orgânicos como os PAHs (Borgerding and Klus 2005). Da combustão do cigarro resulta ainda a formação de inúmeras substâncias que são libertadas no ar ambiente. Na tabela II estão identificadas as principais classes conhecidas de compostos químicos presentes no fumo de tabaco e especificados 61 compostos, todos eles reconhecidamente carcinogénicos em animais de laboratório, 15 dos quais também em humanos. Muito provavelmente, não são conhecidos todos os compostos carcinogénicos presentes no fumo do tabaco, mas tendo em conta os referidos nesta lista os fumadores estão expostos a 1,4-2,2mg/cigarro de substâncias carcinogénicas (Hecht 2006).

**Tabela II** – Classes de compostos presentes no fumo de tabaco.

Classes	
<p>Gases neutros  Óxidos de carbono  Óxidos de azoto  Amidas, Imidas, Lactâmicos  Ácidos carboxílicos  Lactonas  Ésteres  Aldeídos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Formaldeído</li> <li>▪ Acetaldeído</li> </ul> <p>Cetonas  Alcoóis</p> <p>Compostos fenólicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Catecol</li> <li>▪ Ácido cafeico</li> </ul> <p>Aminas aromáticas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 2-Toluidina</li> <li>▪ 2,6-Dimetilanilina</li> <li>▪ 2-Naftilamina</li> <li>▪ 4-Aminobifenil</li> </ul> <p>Aminas aromáticas heterocíclicas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ A-<math>\alpha</math>-C</li> <li>▪ MeA-<math>\alpha</math>-C</li> <li>▪ IQ</li> <li>▪ Trp-P-1</li> <li>▪ Trp-P-2</li> <li>▪ Glu-P-1</li> <li>▪ Glu-P-2</li> <li>▪ PhIP</li> </ul> <p>N-nitrosaminas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ N-Nitrosodimetilamina</li> <li>▪ N-Nitrosoetilmetilamina</li> <li>▪ N-Nitrosodietilamina</li> <li>▪ N-Nitrosopirrolidina</li> <li>▪ N-Nitrosopiperidina</li> <li>▪ N-Nitrosodietanolamina</li> <li>▪ N-Nitrosornicotina (NNN)</li> <li>▪ 4-(Metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK)</li> </ul> <p>Hidrocarbonetos azotados</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Nitrometano</li> <li>▪ 2-Nitropropano</li> <li>▪ Nitrobenzeno</li> </ul>	<p>Compostos heterocíclicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Furano</li> <li>▪ Dibenzo[a,h]acridina</li> <li>▪ Dibenzo[a,j]acridina</li> <li>▪ Dibenzo[c,g]carbazole</li> <li>▪ Benzo[b]furano</li> </ul> <p>Hidrocarbonetos alifáticos, acíclicos  Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Benzo[a]antraceno</li> <li>▪ Benzo[b]fluoranteno</li> <li>▪ Benzo[j]fluoranteno</li> <li>▪ Benzo[k]fluoranteno</li> <li>▪ Benzo[a]pireno</li> <li>▪ Dibenzo[a,h]antraceno</li> <li>▪ Dibenzo[a,i]pireno</li> <li>▪ Dibenzo[a,e]pireno</li> <li>▪ Indeno[1,2,3-cd]pireno</li> <li>▪ 5-Metilcriseno</li> </ul> <p>Hidrocarbonetos voláteis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 1,3-Butadieno</li> <li>▪ Isopreno</li> <li>▪ Benzeno</li> </ul> <p>Nitrilos  Anidridos  Carbohidratos  Éteres</p> <p>Compostos orgânicos vários</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Acetamida</li> <li>▪ Acrilamida</li> <li>▪ Acrilonitrilo</li> <li>▪ Cloreto de vinilo</li> <li>▪ 1,1-Dimetilhidrazina</li> <li>▪ Óxido de etileno</li> <li>▪ Óxido de propileno</li> <li>▪ Uretano</li> </ul> <p>Metais e compostos inorgânicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arsénico</li> <li>▪ Berílio</li> <li>▪ Níquel</li> <li>▪ Crómio (hexavalente)</li> <li>▪ Cobalto</li> <li>▪ Chumbo</li> <li>▪ Hidrazina</li> <li>▪ Radioisótopo Polónio-210</li> </ul> <p>Radicais de semi-vida curta e longa</p>

Adaptado de: Hoffmann et al. 2001; IARC 2004; Borgerding and Klus 2005; Hecht 2006. IARC – International Agency for Research on Cancer.

Nos últimos anos, vários grupos de investigação têm vindo a esclarecer a actividade biológica adversa de vários dos compostos do tabaco e o espectro de substâncias identificadas tem-se alargado para além da já então conhecida nicotina, associada ao seu efeito aditivo. O fumo de

cigarro é composto por mais de 4000 substâncias conhecidas, das quais mais de 60 são carcinogénicos implicados em vários tipos de cancro e estão relacionados com o tabagismo (Mackay and Eriksen 2002; Hecht 2006).

Os compostos presentes no fumo de cigarro não exercem apenas efeito a nível local no sistema respiratório mas, também a nível sistémico, uma vez que são absorvidos pelo organismo entrando na circulação sanguínea. Por outro lado, os efeitos locais do tabaco sobre o sistema respiratório foram-se tornando cada vez melhor elucidados, e o estudo dos seus efeitos sistémicos e da sua capacidade em induzir doença crónica em outras localizações, como a aterosclerose ou a DPOC, é hoje o principal foco do estudo das doenças relacionadas com o tabaco.

De entre os carcinogénios presentes no fumo de tabaco, os que têm sido mais amplamente estudados, são os PAHs, sobretudo o benzo[a]pireno devido à sua associação ao cancro do pulmão (Hecht 1999). Os PAHs são uma das classes de compostos geradas durante a combustão do tabaco (Hoffmann e Hoffmann 1997). Centenas de PAHs e seus derivados foram identificados no fumo de tabaco, e de acordo com uma publicação recente da International Agency for Research on Cancer (IARC), 10 PAHs considerados carcinogénicos estão presentes no fumo de tabaco (Tabela III). Os PAHs são há muito considerados poluentes ambientais formados através da combustão incompleta de compostos orgânicos (Ding et al. 2005). A U.S. Environmental Protection Agency (EPA) identificou 16 PAHs prioritários como poluentes ambientais, muitos dos quais se sobrepõem à lista da IARC, baseado em evidência da sua actividade tóxica e/ou capacidade carcinogénica (EPA 1980; EPA 1986). A exposição, na população em geral ocorre principalmente pela inalação de ar contaminado por gás de combustão automóvel ou de fornos, através do fumo de tabaco, comida que contenha PAHs formados através da confecção a temperaturas elevadas ou através da exposição ocupacional. Os PAHs estão também presentes na água, como ocorre em rios contaminados por descargas de refinarias de óleo ou indústrias químicas e podem ser ingeridos em alguns tipos de bebidas, ou podem até estar presentes no leite materno, em concentrações mais elevadas em mães fumadoras ou que residam em zonas urbanas (Xu et al. 2007; Zanieri et al. 2007; Kamangar et al.

2008; Guo et al. 2009).

**Tabela III –** Quantificação por cigarro de 10 PAHs, no fumo de cigarro nos EUA

<b>Composto</b>	<b>Quantidade (ng/cigarro)<sup>a</sup></b>	<b>IARC (intervalos)<sup>c</sup></b>	<b>Grupo IARC<sup>d</sup></b>
<b>Benzo[a]antraceno</b>	38,2 – 66,6	20 - 70	2A
<b>5-Metilcriseno</b>	2,5 – 3,9	ND – 0,6	2B
<b>Benzo[j]fluoranteno</b>	14,3 – 24,3	6- 21	2B
<b>Benzo[b]fluoranteno</b>	5,1 – 12,1	4 – 22	2B
<b>Benzo[k]fluoranteno</b>	2,5 – 5,0	6 – 12	2B
<b>Benzo[a]pireno</b>	10,0 – 15,8	8,5 – 11,6	1
<b>Indeno[1,2,3-cd]pireno</b>	7,3 – 11,2	4 – 20	2B
<b>Dibenzo[a,h]antraceno</b>	3,6 – 6,2	4	2A
<b>Dibenzo[a,e]pireno</b>	1,9 – 2,6	Presente	2B
<b>Dibenzo[a,i]pireno</b>	0,9 – 1,2	1,7 – 3,2	2B

Adaptado de: Ding et al. 2007. <sup>a</sup>Intervalo entre as 9 marcas comerciais analisadas (n=10) em fumo de cigarro extraído nas condições da International Organization for Standardization. <sup>b</sup>Níveis para os Cigarros referência da Universidade de Kentucky. <sup>c</sup>IARC (2004) <sup>d</sup>Grupos IARC: 2B (possivelmente carcinogénico para humanos), 2A (provavelmente carcinogénico para humanos) e 1 (carcinogénico em humanos).

Embora o benzo[a]pireno seja o mais estudado e muitas vezes usado como representante deste grupo de compostos, outros PAHs estão presentes em maiores quantidades. No entanto, as suas consequências sobre a saúde humana são ainda pouco conhecidas. Por exemplo, o benzo[a]antraceno tem concentrações 2-7 vezes superiores, e o benzo[b]fluoranteno pode atingir concentrações até 3 vezes superiores. Segundo a IARC, embora todos os 10 PAHs identificados sejam carcinogénicos em animais, apenas o benzo[a]pireno é reportado como comprovado carcinogénico em humanos (IARC 2004). Os PAHs estão implicados no desenvolvimento do cancro em geral mas os seus efeitos específicos em células neoplásicas, incluindo ao nível da regulação genética, não são tão bem conhecidos. Além disso, uma exposição potencial aos PAHs pode ocorrer mesmo após o desenvolvimento de cancro, pelo que os PAHs podem ter um papel importante na sua progressão, nomeadamente no que diz respeito à invasão e metastização. Como muitos PAHs são potenciais carcinogénicos, a redução dos seus níveis no fumo de cigarro deve ser considerada como uma forma importante de reduzir o risco de cancro, nomeadamente através da reformulação ou desenvolvimento de novos tipos de cigarros que produzam menor quantidade dos

produtos identificados como perigosos para a saúde humana.

No que diz respeito às nitrosaminas específicas do tabaco, são conhecidas 7 (tabela II), mas apenas duas são consideradas importantes devido à sua acção carcinogénica e à sua presença no fumo de cigarro, assim como no tabaco ainda por queimar (IARC 2004). Estas nitrosaminas são a 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK) e a N'-nitrosornicotina (NNN). Estes compostos são ambos carcinogénicas em animais, induzindo tumores do sistema respiratório, entre outros, e são também, de acordo com a IARC, consideradas carcinogénicas para os humanos (Hecht 1998; IARC 2007).

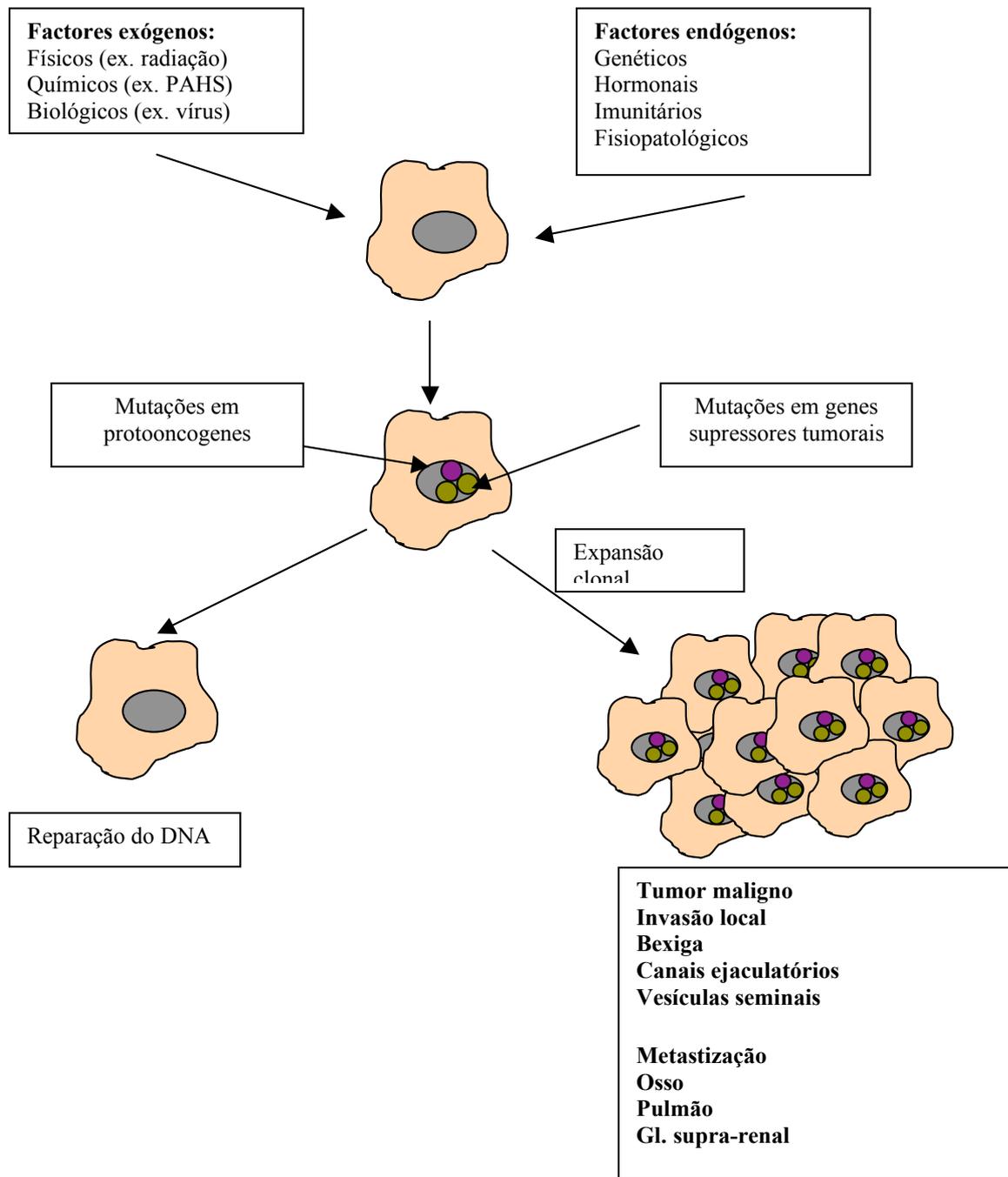
Outros importantes carcinogénicos são as aminas heterocíclicas (tabela II), sendo o 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridina (PhIP) o mais conhecido. Este composto forma-se em condições semelhantes às dos PAHs e está presente nomeadamente na carne frita ou grelhada a altas temperaturas. Os seus metabolitos são também mutagénicos em ratos nos quais induzem cancro da próstata, actuando também através da formação de aductos de DNA (Stuart et al. 2000). Em humanos, a ingestão de PhIP na dieta foi associado a um risco 1,2 vezes superior de cancro da próstata (Cross et al. 2005).

### **Mecanismo de acção dos compostos do fumo de tabaco nas células de cancro da próstata**

A carcinogénese é um processo gradual, que ocorre em múltiplas etapas incluindo a iniciação, promoção e progressão. A iniciação é um processo irreversível e imprevisível mas, que no entanto não transforma a célula normal numa célula neoplásica, conferindo-lhe sim o potencial para o ser. Através do processo de promoção a célula vem a adquirir, pela acumulação de mutações genéticas sucessivas, nomeadamente através da activação de protooncogenes e da diminuição da expressão de genes supressores tumorais, as alterações necessárias para que adquira um fenótipo característico de célula neoplásica. A promoção é um processo lento e necessita da exposição crónica a um agente promotor. A progressão refere-se ao crescimento descontrolado da lesão inicial com a eventual

invasão local e aquisição de capacidade de metastização (Figura 3). A relação entre tabagismo e cancro da próstata não é clara, no entanto, parece existir uma maior incidência de adenocarcinoma pouco diferenciado e de doença mais invasiva em fumadores com esta neoplasia. Por outro lado, o risco conferido parece ser mais proeminente em indivíduos que acumulam outros factores de risco para a doença, nomeadamente, polimorfismos genéticos que conferem menor actividade para enzimas com conhecida actividade destoxicante para alguns dos carcinogénios presentes no fumo do cigarro (Hussain et al. 1992; Rybicki et al. 2006). Hickey et al. 2001, numa revisão sobre o tema, concluiu que os resultados de estudos que relacionam a incidência de cancro da próstata com o tabagismo são não concordantes e inconclusivos. Contudo, a maior parte dos estudos prospectivos encontraram uma associação entre a mortalidade aumentada por esta neoplasia e o tabagismo activo, o que parece reforçar um papel do tabaco na progressão da doença e relacioná-lo com um pior prognóstico e mortalidade aumentada. Também Kuper et al. 2002, numa revisão, observaram que existe uma relação entre consumo de tabaco e doença avançada, não se concluindo nenhuma relação significativa com a incidência do cancro da próstata.

No entanto, Hickey et al (2001), numa revisão sobre a relação entre tabaco e cancro da próstata, referem que os 4 mecanismos biológicos mais frequentemente propostos para explicar o papel do tabaco no desenvolvimento e progressão desta neoplasia são o cádmio, os androgénios, as mutações genéticas e a função imunitária.



**Figura 3** - Esquema simplificado do processo geral da carcinogênese.

O cádmio está presente no tabaco presumivelmente devido ao uso de fertilizantes químicos contendo este metal pesado usados nas plantações. Na revisão de Hickey et al. (2001), são referidos alguns estudos laboratoriais, em animais e em células prostáticas humanas, que evidenciam um papel do cádmio no cancro da próstata, embora exista alguma inconsistência. A exposição crónica ao cádmio induziu tumores da próstata em ratos com função testicular normal (Waalkes 2000).

Além disso, este metal pesado tem a capacidade de activar o receptor do androgénio em células prostáticas humanas em cultura mesmo na ausência de androgénios e, observou-se que quando aplicado em conjunto com estas hormonas, a actividade transcripcional mediada pelos androgénios foi aumentada (Ye et al. 2000). No entanto, apesar de o cádmio ter sido considerado carcinogénico para humanos em 1993 pela IARC, estudos epidemiológicos conduzidos em trabalhadores expostos ao cádmio, assim como uma revisão publicada pela IARC sobre o tema, revelam inconsistência nesta relação levando a concluir-se de uma relação causal pouco clara entre o cádmio e o cancro da próstata (World Health Organization 1993; Hickey et al. 2001).

A hipótese hormonal acenta nos pressupostos de que o tabaco tem um efeito anti-estrogénico e de que o cancro da próstata é uma neoplasia hormono-dependente, pelo menos inicialmente. De facto, o tecido prostático não neoplásico é hormono-dependente no seu crescimento e muito se tem proposto acerca do cancro da próstata e a alteração dos níveis circulantes de hormonas, nomeadamente em relação a níveis aumentados de testosterona sérica. Em particular, o tabaco foi associado a níveis aumentados de testosterona, inclusivamente uma relação positiva entre os número de cigarros/dia e os níveis séricos totais de androstenediona e de testosterona total e livre, mas também associado a níveis diminuídos de estradiol em homens (Dai et al. 1988; Ferrini e Barrett-Connor 1998). A testosterona e o seu metabolito, mais potente, dihidrotestosterona (DHT), são necessários para o desenvolvimento e crescimento do tecido prostático normal, o que, por outro lado, também pode potenciar a transformação maligna, pelo aumento da proliferação celular. Uma vez que os estrogénios actuam no hipotálamo e pituitária suprimindo a secreção de gonadotropinas, e consequentemente, reduzindo a produção testicular de androgénios, a diminuição dos seus níveis séricos pode ter o efeito contrário, ou seja, o de estimular a produção de androgénios podendo actuar como factor de risco acrescido para esta doença (Cunha et al. 1987). Segundo estas observações, é possível supor que o tabaco crie um ambiente hormonal favorável ao desenvolvimento e/ou progressão do cancro da próstata. Plaskon et al. (2003), num estudo populacional, encontraram uma relação positiva entre tabagismo e risco de cancro da próstata e foi

explorada a possibilidade de que alterações na biodisponibilidade da testosterona pudessem ser responsáveis por esta associação, pelo menos em parte. De facto, foi observado que actuais fumadores tinham níveis significativamente mais elevados de testosterona e de SHBG (sex hormone-binding globulin), o que poderia explicar a associação descrita anteriormente. Contudo, Hickey et al. (2001) numa revisão de estudos sobre o efeito do tabaco nos níveis séricos das hormonas testosterona, estradiol, estrona, androstenediona e dihidroepiandrosterona, concluiu que não é claro que o tabaco tenha um efeito anti-estrogénico em homens, baseando-se nos resultados inconsistentes dos estudos analisados.

As mutações genéticas são fundamentais para a aquisição de um fenótipo neoplásico, e ocorrem cumulativamente por exposição a vários factores de risco, nomeadamente, aos compostos carcinogénicos presentes no fumo do tabaco. A nicotina, o mais conhecido composto do tabaco devido à sua acção aditiva é, ela própria, assim como os seus metabolitos, um reconhecido carcinógeno, e também inibidora da apoptose, podendo ter um papel na sobrevivência e selecção das células neoplásicas (Wright et al. 1993). Um possível papel da nicotina no desenvolvimento ou progressão do cancro da próstata não está descrito. Entre estes compostos, os mais estudados são os PAHs, cujo efeito mutagénico e papel na etapa de iniciação dos tumores são já conhecidos, principalmente no que diz respeito aos efeitos no sistema respiratório. Contudo, os seus efeitos sistémicos têm vindo a ser investigados, e é muito provável que estes compostos estejam envolvidos na carcinogénese nas suas várias etapas. O benzo[a]pireno é o PAH mais estudado também no âmbito do cancro da próstata. A sua acção carcinogénica requer activação metabólica enzimática nas células do tecido prostático e, embora tenha vindo a ser fortemente associado ao desenvolvimento do cancro da próstata, assim como com a sua progressão, o mecanismo da toxicidade mediada pelo benzo[a]pireno não é ainda completamente conhecido (Kooiman et al. 2000).

Os PAHs são metabolizados numa primeira fase pelo sistema enzimático P450 em compostos electrofílicos que têm a capacidade de se ligar a macromoléculas como o DNA, formando os

chamados aductos de DNA que consistem em ligações covalentes de compostos electrofilicos estranhos à estrutura da cadeia de DNA, (Figura 4) (Sterling e Cutroneo 2004). Os aductos de DNA são complexos físicos formados entre espécies químicas reactivas e sítios específicos da molécula de DNA tendo sido propostos como potenciais marcadores da exposição a carcinogénios do tabaco. Esta medida pode ajudar a estimar a exposição a carcinogénios para uma avaliação do risco individual de cancro, um dado que pode ser somado a outros conhecidos factores de risco (Wiencke 2002). Estes aductos estão implicados na carcinogénese, uma vez que nos locais danificados por eles ocorrerão mutações que poderão atingir zonas críticas do DNA como os protooncogenes, genes supressores tumorais ou genes codificantes de enzimas responsáveis pela reparação do DNA, mutações estas que são perpetuadas ao longo das divisões celulares (Rybicki et al. 2006). Posteriormente, estes compostos reactivos, originados durante o metabolismo dos PAHs, são removidos por conjugação, uma reacção de fase II, que os torna solúveis em água, tanto por conjugação com a glutatona como com ácido glucurónico. Rybicki et al. (2004), estudaram a distribuição dos aductos de DNA em tecido prostático humano. A distribuição de aductos PAH-DNA foi homogénea nas várias zonas da próstata normal, no entanto, foi encontrada uma distribuição diferente de aductos entre tecido prostático normal e tecido tumoral. O nível médio de aductos nas células não tumorais foi 0,126 unidades de densidade óptica maior (0,299) do que em células tumorais (0,173). Além disso, tumores com grau de Gleason de 5 tinham níveis significativamente inferiores de aductos de DNA do que células tumorais com Gleason de 3 ou 4. Os tumores envoltentes de 10% ou menos do volume da próstata tinham níveis significativamente mais elevados de aductos PAH-DNA do que tumores mais envoltentes, 15-25% do volume prostático. Os níveis de PSA estavam inversamente relacionados com os níveis de PAH-DNA nas células tumorais. Por técnica de coloração específica para aductos PAH-DNA observou-se que existia uma maior intensidade de coloração para as células não tumorais do que para as células tumorais. Todos estes factos mostram uma relação inversa entre os níveis de aductos de DNA e a gravidade ou o grau de progressão da doença. Uma vez que os aductos de DNA não podem ser

replicados e transmitidos no material genético formado de novo durante a mitose, e o tecido prostático neoplásico tem uma elevada taxa de multiplicação celular poderemos admitir que os aductos de DNA diminuem proporcionalmente ao longo das mitoses celulares. Desta forma, estas aberrações de DNA, parecem ter um papel importante sobretudo, durante o processo inicial de carcinogénese [Rybicki et al. 2004].

Noutro estudo em células de cancro da próstata (22Rv1) tratadas com benzo[a]pireno (1  $\mu$ M), foram estudadas as alterações ao proteoma, tendo-se verificado que entre as proteínas cuja expressão aumentou estão a *acidic leucine-rich phosphoprotein* (ANP32A) e a ciclofilina A, cuja expressão também se encontra aumentada em outros tipos de cancro (Chaudhary et al. 2007). A ANP32A é expressa em tecidos normais assim como em vários tipos de cancro, nomeadamente mama, pâncreas e próstata, onde poderá actuar como supressor tumoral (Brody et al. 1999; Bai et al. 2001). Curiosamente, a ANP32A pode promover a apoptose acelerando a activação da caspase-9 após a formação do apoptossoma (Jiang et al. 2003). Paradoxalmente à sua actividade pró-apoptótica, a expressão da ANP32A está muito aumentada no cancro (Brody et al. 2004). De facto, a expressão de ANP32A é muito maior em adenocarcinomas prostáticos com score de Gleason  $\geq 5$  do que em tumores clinicamente indolentes com score de Gleason  $< 5$  (Kadkol et al. 1998). Estes dados sugerem que níveis elevados desta proteína possam promover a malignidade do tumor, assim como permitir prever o seu prognóstico. Por outro lado, Adegbola e Pasternack (2005), mostraram que a proteína hiperfosforilada do gene Rb forma complexos com a ANP32A inibindo a apoptose mediada por esta e propuseram um modelo no qual, em células normais, níveis aumentados de ANP32A sejam transportados para o citoplasma e promovam assim a apoptose, mas nas células neoplásicas, a proteína Rb hiperfosforilada sequestra a ANP32A no núcleo, resultando numa resistência à apoptose. Estas observações podem explicar o paradoxo aparente observado em tumores altamente malignos que expressam níveis muito aumentados de ANP32A, , que podendo ser produzido pela célula como mecanismo de defesa é inactivado como forma de sobrevivência celular.

A ciclofilina A (CypA) é uma imunofilina e um receptor citosólico para o fármaco imunossupressor ciclosporina A (Handschumacher et al. 1984). Além disso, possui actividade enzimática como peptidil-prolil cis-transisomerase (PPIase), o que é importante *in vivo* para o “folding” das proteínas, estando também envolvida em diversos outros processos celulares (Andreeva et al. 1999). Embora pouco se saiba acerca do papel da CypA no cancro, a sua expressão encontra-se aumentada em vários tipos de células neoplásicas e é sabido que protege as células normais da apoptose induzida pelo stresse oxidativo, pelo que os seus níveis aumentados podem ser importantes na carcinogénese dos tumores sólidos, uma vez que pode ter um papel importante na sobrevivência destas células (Doyle et al. 1999). Choi et al. (2007) mostraram pela primeira vez que a transcrição da CypA é induzida pelo factor de transcrição do factor-induzido de hipóxia 1-a (HIF-1-a) em células neoplásicas tratadas em condições de hipóxia. Este aumento da expressão da CypA mostrou prevenir a apoptose induzida pela hipóxia e pelo quimioterápico cisplatina, associando-se também à supressão da produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS) (Choi et al. 2007).

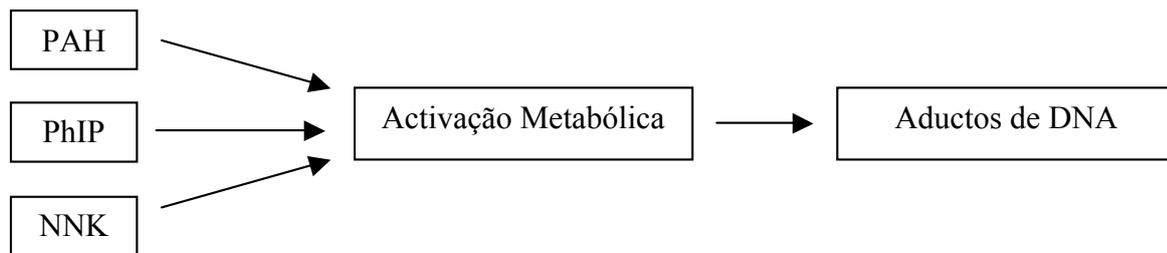
Haque et al. (2005) investigaram a expressão da metaloproteinase de matrix 9 (MMP-9) em células humanas de cancro da próstata expostas a PAHs, entre os quais o benzo[a]pireno, e observaram que houve um aumento da expressão desta enzima. As metaloproteinases são um grupo de enzimas dependentes de zinco que são responsáveis pela proteólise pericelular e que estão associadas à invasão tumoral e metastização pelo que, fumar pode estar associado a um pior prognóstico da doença. (Haque et al. 2005). Apesar de poder aumentar a agressividade da doença no caso do cancro da próstata, não se conhece de que forma o tabaco influencia a expressão destas enzimas. Quando células de cancro da tiróide foram tratadas com 1µM de PAHs em cultura, observou-se que na presença de benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno e benzo[k]fluoranteno houve promoção da proliferação celular, sendo que o benzo[a]pireno teve um efeito especialmente acentuado (Kobayashi et al. 2005]. Ainda neste estudo se mostrou que os metais pesados, especialmente o cádmio, provocaram toxicidade celular marcada, mensurada pela diminuição do número de células. Todos estes compostos estão presentes no fumo de tabaco e induzem proliferação celular, ou

toxicidade no caso dos metais pesados, o que pode estar relacionado com o desenvolvimento tumoral. Os efeitos do tabaco são sobretudo sistémicos e afectam células de outros órgãos não relacionados com a próstata, provavelmente de forma semelhante.

Enokida et al. (2006) conduziram um estudo que demonstrou pela primeira vez uma relação significativa entre o estado de metilação de múltiplos genes com o consumo de tabaco (carga tabágica e consumo actual, no passado ou nunca fumador). Foi estabelecida uma relação com a progressão e prognóstico do cancro da próstata através da hipermetilação CpG de genes relacionados, nomeadamente, o APC (adenomatous polyposis coli), o GSTP1 (glutathione S-transferase  $\pi$  1) e o MDR1 (multidrug resistance 1). Os resultados demonstram uma metilação de genes significativamente maior em indivíduos fumadores comparativamente a indivíduos que nunca fumaram, assim como, uma relação positiva entre o número de unidades maço-ano (UMA) e a metilação destes genes, em doentes com cancro da próstata (Enokida et al. 2006). O silenciamento de genes através da metilação do DNA em ilhéus CpG nas regiões promotoras é um dos mecanismos major de inactivação de genes supressores tumorais, juntamente com as mutações e a perda de heterozigotia (Jones e Baylin 2007). Além disso, a metilação do DNA pode ser um potencial marcador molecular para estimar o risco de cancro, melhorar a sua detecção e monitorização, assim como para prever a resposta à terapêutica e prognóstico (Laird 2003).

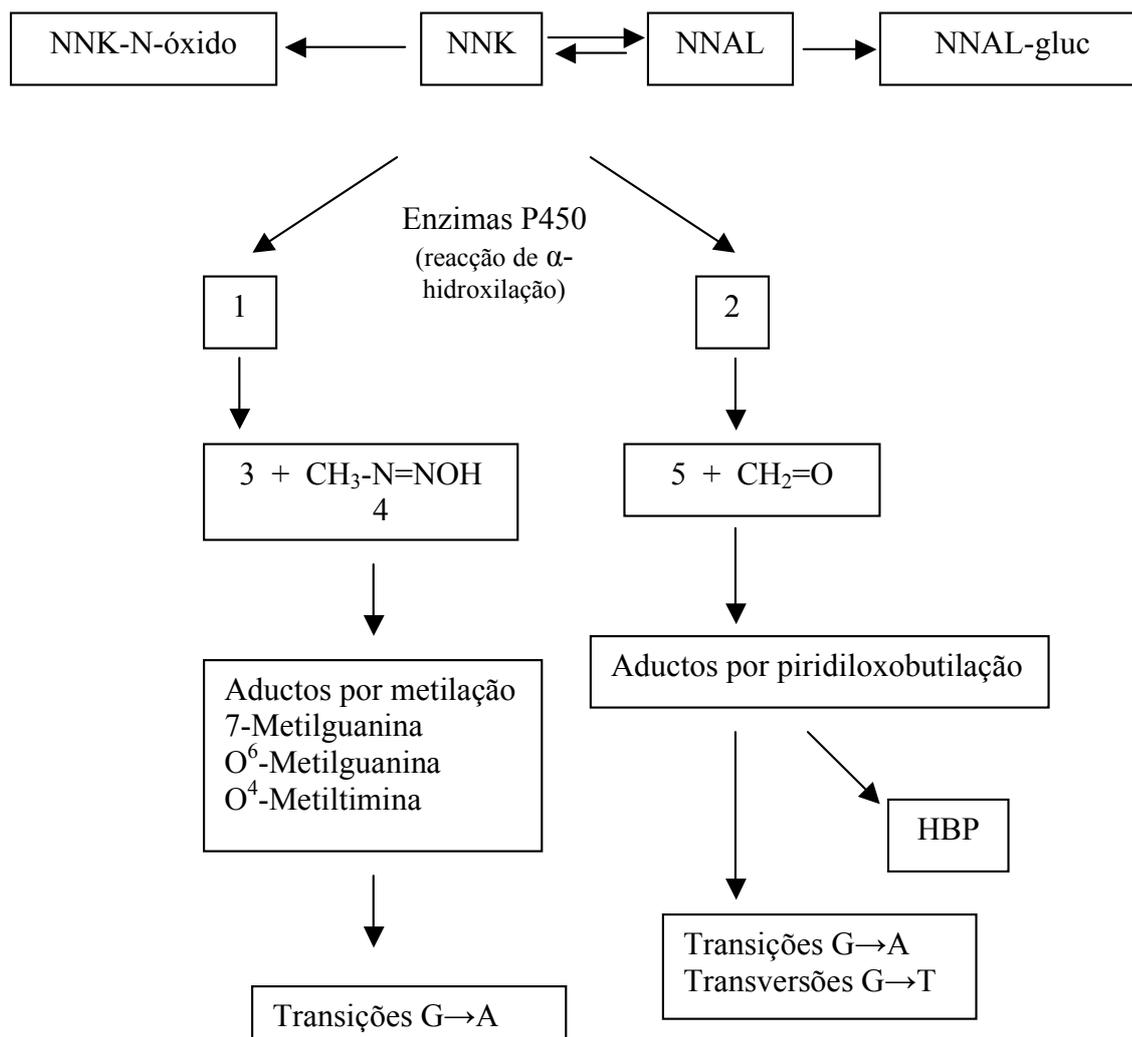
O estado de metilação tem tendência a ser menor nos ex-fumadores do que em fumadores activos, o que mostra que deixar de fumar pode diminuir o risco de cancro da próstata avançado uma vez que também o estado de metilação, maior, se relacionou positivamente com doença avançada (Enokida et al. 2006). Estas observações mostram que muito provavelmente a relação entre a metilação dos genes relacionados ocorre de uma forma dependente de dose, uma vez que o número de maços-ano fumados foi o único parâmetro associado com o estado de metilação. Esta pode ser uma das razões pela qual a idade média dos doentes com cancro da próstata seja superior à da dos doentes com cancro do pulmão, uma vez que nestes a metilação dos genes se parece relacionar essencialmente com a idade de início dos hábitos tabágicos e não tanto com a carga tabágica (Marsit et al. 2005).

No que diz respeito às N-nitrosaminas, a NNK e a NNN são inicialmente  $\alpha$ -hidroxiladas pelo sistema P450 daí resultando metabolitos que em reacções subsequentes formam compostos capazes de formar aductos de DNA, comuns a outros conhecidos carcinogénios metilantes [Hecht 1998; Hecht 2008]. Em traços gerais a activação metabólica e o mecanismo de acção é semelhante para o que ocorre com os PAH, ou as aminas heterocíclicas como o PhIP (figura 4).



**Figura 4** – Carcinogénios do tabaco e sua relação com a formação de aductos de DNA.

Esta reacção inicial de hidroxilação, tal como ocorre com outros carcinogénios presentes no tabaco, é essencial para a activação destas substâncias como carcinogénicos. No caso particular do NNK, um esquema simplificado da metabolização do NNK é mostrado na figura 5.



**Figura 5** – Esquema simplificado da metabolização intracelular do NNK.

Por acção de carbonil reductases, o NNK é rapidamente convertido em 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL), um conhecido carcinogénio pulmonar que é em parte convertido em NNAL-gluc, ácido [4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)but-1-il]-β-O-D-glucosidurónico (Figura 5). O NNAL e NNAL-gluc podem ser usados como biomarcadores, pois são detectados em quantidades significativas na urina dos fumadores (Hecht 1997). A N-oxidação piridínica do NNK e NNAL forma os respectivos N-óxidos, que tal como os glucuronidos, são productos de destoxificação. A activação metabólica propriamente dita ocorre com a α-hidroxilação produzindo compostos intermediários instáveis, 1 e 2 que sofrem decomposição espontânea com formação de aldeídos e

dos diazohidróxidos 4 e 5, que provocam as mutações permanentes no DNA representadas no esquema, nos tecidos alvos do NNK (Hecht 1997). A hidrólise de DNA de animais tratados com NNK ou de fumadores produz 4-hidroxil-1-(3-piridil)-1-butanona (HBP), um biomarcador da activação metabólica do NNK (Hecht et al. 1994).

A metabolização do PhIP é iniciada através da acção da P450, por N-oxidação, ocorrendo posteriormente a formação de compostos electrofílicos, N-acetoxi-PhIP e N-sulfoniloxi-PhIP, por acção, respectivamente, de N-acetiltransferases ou sulfotransferases (Gooderham et al.1996; Turesky et al. 1991). Estes compostos são electrofílicos e, à semelhança do que ocorre com os PAH e as nitrosaminas, ligam-se covalentemente ao DNA, formando aductos, o que conduz a alterações da sua estrutura e possíveis mutações em genes que controlam a proliferação celular. Todos estes fenómenos ocorrem em células do cancro da próstata *in vivo* (Tang et al. 2007).

O tabaco afecta o sistema imunitário nomeadamente pelo aumento da produção e libertação de espécies reactivas de oxigénio (ROS) por células do sangue periférico, aumento da contagem periférica de leucócitos polimorfonucleados, diminuição da actividade nas células natural killer e dos linfócitos T supressores quando comparados com não fumadores (van Eeden e Hogg 2000; Hughes et al. 1985). No entanto, não é claro que exista um papel destas alterações no sistema imunitário na carcinogénese e progressão do cancro da próstata para além do possível papel das espécies reactivas de oxigénio (Lancet 1990).

### **Relação do tabaco com o stresse oxidativo**

O fumo de tabaco pode ser considerado uma mistura química com forte capacidade oxidativa e que actua também aumentando a produção endógena de substâncias oxidantes no organismo. Contém radicais livres, como o óxido nítrico (até cerca de 600µg por cigarro) e outras ROS, sendo o radical livre principal, o complexo quinona-hidroquinona (Hecht 1999; Hecht 2006). O stresse oxidativo é

o resultado de um desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade da célula em eliminar estes compostos ou reparar os danos por eles causados. ROS é um termo colectivo para designar metabolitos reactivos do oxigénio e estes compostos são formados continuamente nas células como consequência natural do seu metabolismo durante a fosforilação oxidativa mitocondrial e outras reacções de transferência de electrões. A produção contínua de ROS celular também é estimulada pelos carcinogénios, tóxicos ambientais, infecção e inflamação, e é uma consequência inevitável do envelhecimento nos organismos aeróbios (Beckman e Ames 1998; Finkel e Holbrook 2000; Coussens e Werb 2002). Alguns estudos sugerem que a acção das ROS no cancro da próstata, depende de variações interindividuais relacionadas com a resposta antioxidante, condicionando desta forma, a lesão oxidativa das biomoléculas nomeadamente, no DNA. (Fan et al. 2004; Muzandu et al. 2005). Contudo, não é conhecido o papel específico do tabaco no que diz respeito ao stresse oxidativo no cancro da próstata.

As ROS mais relevantes são o peróxido de hidrogénio, o anião superóxido, o radical hidroxilo . sendo estes dois últimos classificados como radicais livres, ou seja, possuem electrões não emparelhados na sua órbita molecular exterior (Novo e Parola 2008). Apesar da produção contínua de ROS, um ambiente intracelular reduzido é mantido por várias enzimas, mas um distúrbio no estado redox normal pode provocar várias alterações intracelulares através da produção de peróxidos e radicais livres que lesam os componentes celulares, incluindo as proteínas, lípidos e o próprio DNA (Freidovich 1999). Além disso, o stresse oxidativo pode alterar várias funções nas células normais e tumorais actuando sobre as vias de sinalização intracelular e estruturas celulares que envolvem a proliferação celular, promoção de mutações e instabilidade genética, alteração da sensibilidade celular aos agentes anticancerígenos, invasão local e metastização. Contudo, os efeitos do stresse oxidativo dependem ainda do fundo genético, dos tipos de ROS envolvidos, e dos níveis e duração da exposição aos ROS (Toyokuni et al. 1995; Pelicano et al. 2004).

Os efeitos sistémicos do tabaco no que diz respeito ao stresse oxidativo são significativos e actuantes em várias vertentes, nomeadamente, através da acção directa das ROS presentes no fumo

sobre outras moléculas, pela indução do aumento de leucócitos polimorfonucleados produtores de ROS, e pela indução da diminuição das defesas antioxidantes (van Eeden e Hogg 2000; Yanbaeva et al. 2007). O tabaco é assim um promotor de inflamação sistémica, e a principal alteração provocada é a leucocitose, sobretudo à custa de polimorfonucleados.

Os efeitos sobre a capacidade antioxidante do plasma incluem a diminuição dos níveis séricos das vitaminas A e C e, em menor extensão, a diminuição dos níveis plasmáticos da glutathiona reduzida (GSH), aumento da sua forma oxidada (GSSG), e diminuição dos níveis do aminoácido cisteína, assim como oxidação do seu par redox cisteína/cisteína oxidada, que em última análise é crítica para a regeneração da GSSG em GSH (Yanbaeva et al. 2007).

Os níveis elevados de antioxidantes no plasma também parecem estar associados a um efeito protector do desenvolvimento de cancro da próstata. De acordo com um trabalho de revisão de Nelson et al. (2003), entre os antioxidantes estudados com maior efeito protector estão o licopeno (presente no tomate), a vitamina E, selénio e o sulforafano. Gann et al (1999), mostraram que uma elevada ingestão de tomate produz níveis elevados do antioxidante licopeno no plasma, o que se associa a um risco reduzido de desenvolver cancro da próstata. Nelson et al. (2003), na mesma revisão, incluiu o sulforafano como um antioxidante indirecto, comprovadamente indutor da expressão de enzimas destoxicantes de carcinogénios. Este composto também apresenta um efeito preventivo do cancro em modelos animais e diminuiu o risco de cancro da próstata em humanos após a ingestão de quantidades significativas de vegetais contendo este composto.

Freitas, et al. (2007) num estudo preliminar em doentes com cancro da próstata observaram uma tendência para o aumento de stresse oxidativo no grupo de fumadores. Desta forma, no grupo de doentes fumadores encontraram uma diminuição significativa do estado de antioxição total (TAS), da glutathiona, bem como de um aumento do malondialdeído o qual traduz a peroxidação lipídica e constitui um importante biomarcador de stresse oxidativo.

Em culturas celulares de macrófagos (monocyte-derived macrophages - MDM), a exposição ao fumo de tabaco conduziu a uma redução dos níveis intracelulares de GSH e levou a um aumento da

produção de ROS, de uma forma dependente da concentração (Sarir et al. 2009). A produção aumentada de ROS está associada a lesão oxidativa do DNA, de diversas formas, nomeadamente pela modificação de bases e quebras nas ligações. Um estudo conduzido em ratos, com o intuito de estudar a apoptose e lesões provocadas pelo stresse oxidativo resultante da acção do fumo de tabaco em células do epitélio pigmentado da retina (EPR), mostrou que a exposição crónica ao fumo de tabaco provocou lesão oxidativa do DNA, através da quantificação da formação de aductos de DNA pela técnica imunohistoquímica utilizando anticorpo anti-8-oxo-7,8-dihydro-29-deoxyguanosine (anti-8OhdG) (Fujihara et al. 2008).

Chaudhary et al. (2007), observaram um aumento significativo da expressão da peroxirredoxina I (Prx I), quando células de cancro da próstata (22Rv1) e células próstáticas normais (PrEC), foram tratadas com benzo(a)pireno 1µM. As peroxiredoxinas são enzimas antioxidantes que catalizam a degradação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e outros peróxidos assim como certos lípidos oxidados reduzindo o stresse oxidativo intracelular. Além de proteger a célula contra o stresse oxidativo, as peroxirredoxinas têm também um papel na modulação da sinalização intracelular através do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como segundo mensageiro e na regulação da proliferação celular (Cha et al. 2009). Segundo o mesmo autor, vários estudos mostraram que as peroxiredoxinas I e II são importantes na manutenção do potencial redox celular e poderão ser importantes alvos terapêuticos. O aumento da expressão de peroxiredoxina I foi interpretado como um mecanismo de auto-defesa destas células, uma vez que lhes confere uma defesa contra o stresse oxidativo. A peroxirredoxina está aumentada também em vários outros tipos de cancro, e um papel na capacidade de sobrevivência da célula e na progressão do cancro tem sido sugerido (Chang et al. 2001; Yanagawa et al. 1999). Park et al. (2007) mostraram que a Prx1 também interage fisicamente com o receptor do androgénio (AR) e aumenta a sua transactivação em resposta à hipóxia/reoxigenação em células do cancro da próstata. Além disso, mostrou-se que a Prx1 é capaz de sensibilizar a actividade do AR estimulada por ligando. Estas observações sugerem que a Prx1 possa ter um papel importante na mediação de uma activação anormal do AR numa série de células de cancro da próstata capazes de sobreviver com níveis reduzidos de androgénios e em

condições instáveis de oxigenação. Por outro lado, houve uma diminuição da expressão da Prx II em ambas as linhas celulares o que pode contribuir para a tumorigénese mediada pelo benzo(a)pireno, uma vez que uma diminuição da expressão desta peroxiredoxina não só leva a um aumento dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelular, como também aumenta a capacidade de sobrevivência e proliferação da célula, por activação dos receptores de factor de crescimento.

A diminuição da capacidade antioxidante do plasma, e do organismo de uma forma geral, associada à enorme carga de substâncias oxidantes e radicais livres presentes no fumo de tabaco, assim como aquelas produzidas por estímulo deste no organismo, conduz a um desequilíbrio na balança oxidação/antioxidação resultante num aumento do stresse oxidativo, o que ao longo do tempo promove o envelhecimento celular e a carcinogénese.

### **Polimorfismos relacionados com a susceptibilidade para a doença em indivíduos fumadores**

A relação entre o tabagismo e o cancro da próstata não é clara, no entanto, na presença de outros factores de risco, nomeadamente, polimorfismos no gene da glutathione-S-transferase (GST) e outras enzimas, o tabaco parece aumentar o risco de desenvolvimento de cancro da próstata. É de notar que estas enzimas participam na metabolização dos PAHs e os polimorfismos em causa são responsáveis por uma menor actividade destas enzimas. (Rybicki et al 2008).

A GST diz respeito a uma classe de enzimas de fase II responsáveis por catalizar a biotransformação, por conjugação com a glutathione, de uma variedade de metabolitos activados de procarcinogénios produzidos em reacções de fase I. Antes do metabolito electrofilico do benzo[a]pireno, benzo[a]pireno-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido (BPDE), se poder ligar ao DNA criando aductos, pode ser eliminado por esta classe de enzimas (Nebert and Vasiliou 2004). Deficiências nestas enzimas podem aumentar o risco de mutações somáticas e consequentemente levar à formação de tumores (Rebbeck 1997). Várias tipos de GST são encontradas nas células

prostáticas, nomeadamente alfa, mu, pi e teta sendo que a mais abundante é a pi (GSTP1). No epitélio prostático normal a GSTP1 é expressa nas células basais mas não nas células colunares secretórias, mas a sua expressão pode ser induzida se ocorrer exposição a carcinogénios (Nelson et al 2003). A GSTP1 é uma enzima que actua na defesa contra compostos carcinogénicos como os PAHs, PhIP e compostos oxidantes defendendo a célula da sua acção sobre o genoma. Curiosamente, ao contrário do que ocorre com a maior parte dos outros tipos de tumores, as células de cancro da próstata na maior parte dos casos não exprimem esta enzima, o que é devido, em mais de 90% dos casos, a hipermetilação dos ilhéus CpG da sequência reguladora do gene GSTP1, uma alteração somática que previne a sua transcrição [Lin et al. 2001; Meiers et al. 2007]. A hipermetilação das sequências CpG ao nível da região reguladora do gene GSTP1 pode ser a ligação entre a exposição a compostos carcinogénicos que lesam o DNA e o desenvolvimento de cancro da próstata. Nelson et al. (2001), num estudo efectuado em linhas celulares de cancro da próstata (LNCaP), modificadas para expressarem GSTP1 e expostas ao PhIP, uma amina aromática heterocíclica presente no fumo de cigarro, formaram substancialmente menos aductos de DNA (Nelson et al. 2001). Assim, a GSTP1 actua essencialmente como uma enzima *caretaker* que actua na destoxificação de compostos potencialmente lesantes das macromoléculas, nomeadamente o DNA, e cuja ausência expõe a célula directamente à acção dos carcinogénios ou seus metabolitos. A GSTP1 apresenta dois polimorfismos, Ile105Val e Ala114Val, mas o primeiro, em que o aminoácido isoleucina é substituído por valina no codão 105, parece ter maior influência na actividade enzimática por estar localizado mais próximo do local activo e está associado a uma redução da sua actividade para certos substratos, incluindo os metabolitos dos PAHs (Harries 1997; Mao 2004). Rybicki et al. (2006) num estudo em 637 casos de cancro da próstata e 244 controlos para determinar se o polimorfismo GSTP1 Ile105Val modifica o risco de cancro da próstata associado a exposição ocupacional a PAHs obtiveram resultados que sugerem que os indivíduos expostos ocupacionalmente aos PAHs e concomitantemente portadores deste polimorfismo apresentaram maior risco de cancro da próstata. Além disso, o quartil de indivíduos com maior

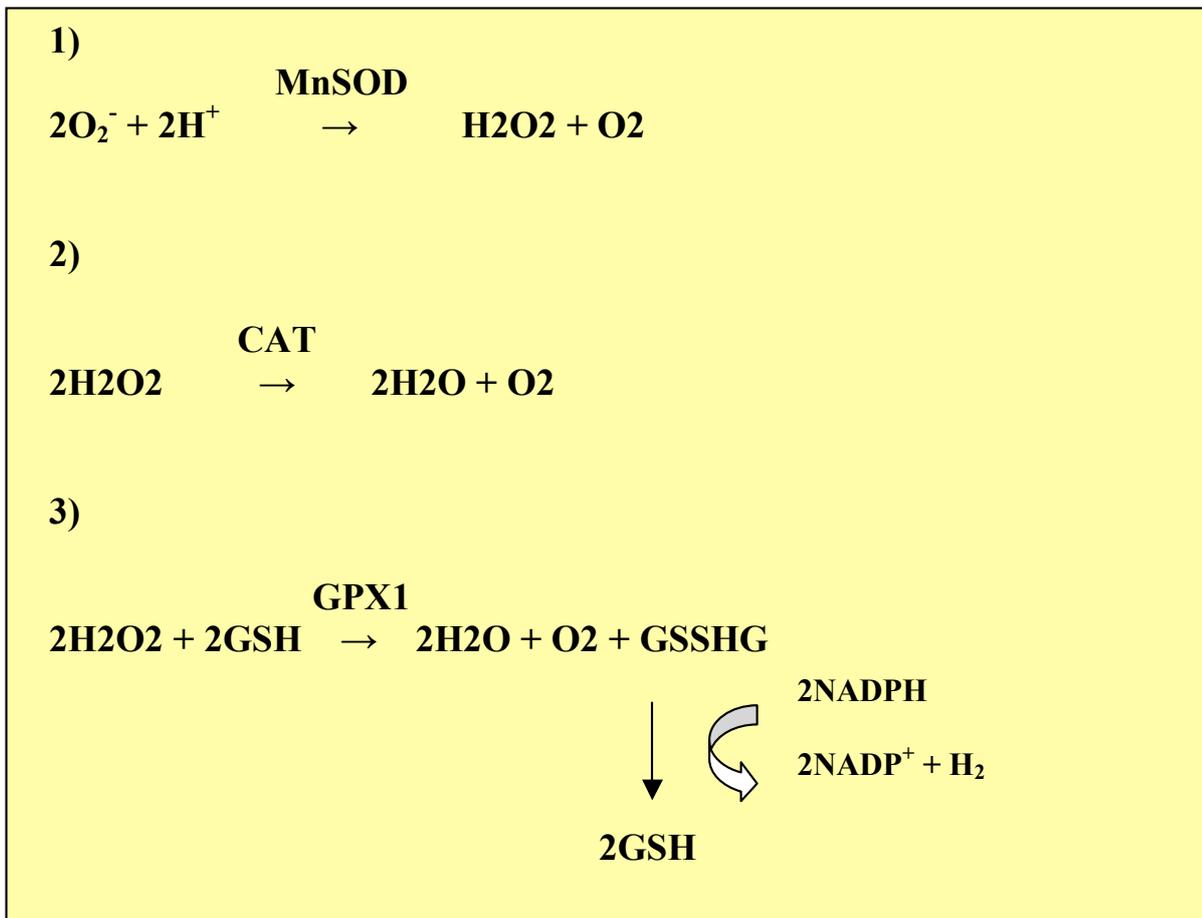
exposição aos PAHs foi também o que apresentou maior proporção do genótipo GSTP1 Ile105Val. Outros grupos em que se observou associação da doença a este polimorfismo foram os de doença precoce (idade inferior a 60 anos), com história familiar de cancro da próstata ou fumadores, nos quais se julga existirem factores de risco adicionais (Rybicki et al. 2006). Krstev et al. (1998) mostraram que as profissões associadas com o cancro da próstata são aquelas em que potencialmente existe exposição ocupacional a estes composto.

Nora et al. (2006) estudaram a associação entre o cancro da próstata e o tabagismo assim como os possíveis efeitos dos polimorfismos funcionais em genes que metabolizam os PAH (CYP1A1 Ile462Val, epóxido hidrolase microsossomal His139Arg) e destoxificam os seus metabolitos (GSTM1 null, GSTT1 null, GSTP1 Ile105Val e Ala114Val) num estudo em 439 casos de cancro da próstata e 479 controlos (irmãos não afectados dos primeiros). Considerando a totalidade de casos, nenhuma associação significativa foi encontrada entre tabagismo ou qualquer dos polimorfismos e cancro da próstata. Contudo, considerando os efeitos adicionados do fumo de tabaco e do genótipo GSTM1 null, observou-se um risco quase duas vezes superior, enquanto que os portadores do alelo GSTM1 “nondeleted” não tinham este risco. Além disso, constatou-se que o alelo GSTM1 “nondeleted” estava associado a uma diminuição do risco de cancro da próstata especialmente num grupo de grandes fumadores (Nora et al. 2006).

As variantes na GSTM1 e GSTT1 que conduzem a uma perda total da enzima (“null deletion”) e o polimorfismo GSTP1 Ile105Val e a sua associação a um aumento de risco de cancro da próstata não é contudo consensual, uma vez que há estudos que mostram um aumento do risco e outros uma diminuição (Nora et al. 2006). Pode-se concluir que nos vários estudos que relacionam as GST e cancro da próstata há um risco aumentado da doença através da exposição ambiental a carcinogénios em indivíduos que não expressam estas enzimas ou que expressam formas menos activas das mesmas. Contudo, Kelada et al. (2000) mostraram o oposto para a GSTT1, em que os indivíduos que exprimem a enzima, ou sejam que não apresentam deleção do alelo, tinham maior risco de cancro da próstata e que este risco era aumentado em fumadores. Embora não se encontre

ainda explicação para esta associação é possível que ocorra activação metabólica de compostos presentes no fumo de cigarro por esta enzima, e que estes metabolitos possam ser carcinogénicos, embora mais estudos sejam necessários, numa população mais alargada e considerando outros factores de risco.

O risco de cancro da próstata aumenta com a idade, indicando que os processos inflamatórios e a exposição cumulativa a espécies reactivas de oxigénio ao longo da vida possam estar relacionados com a carcinogénese na próstata. Por outro lado, parece que polimorfismos que diminuem a actividade das principais enzimas que metabolizam espécies reactivas de oxigénio não aumentam o risco de cancro da próstata em fumadores. Num estudo realizado em 533 casos de cancro da próstata, foi estudada a associação entre a presença de um ou mais polimorfismos das enzimas manganésio superóxido dismutase (MnSOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPX1), não se encontrando qualquer associação entre estes e o risco de cancro da próstata, mesmo em grandes fumadores (Choi et al. 2007)). A MnSOD catalisa a conversão dos radicais superóxido em peróxido de hidrogénio, enquanto a CAT e a GPX1 facilitam as seguintes reacções de redução do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio (figura 6).



**Figura 6** – Reacções catalizadas pelas MnSOD, CAT e GPX1.

Através desta cadeia enzimática, a maior parte dos ROS celulares são eliminados, prevenindo-se a lesão celular potencial por acumulação destes compostos.

O polimorfismo estudado para a MnSOD foi o MnSOD Ala-16-Val (MnSOD AA, substituição de alanina por valina no aminoácido 16, T por C, que afecta a localização e o transporte da enzima para a mitocôndria), que já foi referido em alguns estudos, mas com resultados pouco consistentes. Noutro estudo constatou-se uma elevação do risco de cancro da próstata sobretudo no grupo de homens com carcinoma de elevado grau (Woodson et al. 2003). Li, et al. (2005) noutro estudo com base em casos de cancro da próstata, observou-se que a presença deste polimorfismo aumentou significativamente o risco de cancro da próstata em homens com baixos níveis de antioxidantes pré-diagnóstico. Os outros polimorfismos estudados foram o CAT 262C>T e o GPX1 Pro200Leu, ambos associados a menor actividade enzimática, mas sem qualquer associação com o risco de

cancro da próstata. O alelo C da CAT é transportado mais eficientemente para a mitocôndria aumentando a sua quantidade na matriz mitocondrial o que conduz a uma mais rápida eliminação do anião superóxido, fonte potencial da lesão genética, o que poderia estar associado a um risco menor de cancro da próstata. Por outro lado, a mais rápida metabolização do anião superóxido leva a uma acumulação de peróxido de hidrogénio, que é tóxico se não for removido pela potencial formação de radicais hidroxilo, o que associaria o alelo C a um risco aumentado de cancro da próstata. Choi, et al., numa discussão deste assunto, observou que estudos sobre a influência destes polimorfismos em cancros hormono-dependentes (mama, ovário e próstata) mostraram que há um aumento do risco para o alelo C da enzima CAT e para cancros de outras localizações (bexiga, pulmão e colorectal), o risco aumenta com o alelo T, permanecendo por esclarecer a razão desta variação.

Outro estudo mostrou uma associação entre cancro da próstata e o genótipo MnSOD AA em homens que foram fumadores e/ou com genótipo de acetilador rápido para N-acetil transferase (NAT1) (Iguchi, et al. 2009). A NAT é uma enzima que activa metabolicamente aminas aromáticas e heterocíclicas, ambos compostos carcinogénicos presentes no tabaco. O perfil de acetilador rápido da NAT1 (NAT1R) parece estar associado a uma maior formação de metabolitos derivados das aminas heterocíclicas e aromáticas presentes no fumo do cigarro, o que está de acordo com a observação de que este genótipo possa ser um factor de risco em indivíduos fumadores, uma vez que estão expostos a maiores quantidades dos referidos compostos (Wang et al. 1999). Objectivamente, os indivíduos fumadores com genótipo NAT1R que tinham concomitantemente o genótipo MnSOD AA apresentavam um risco 4 vezes superior de cancro da próstata relativamente aos que possuíam outros genótipos da MnSOD (VV, VA).

## **Estudos que associam o tabagismo ao desenvolvimento e progressão do cancro da próstata**

Embora vários estudos epidemiológicos não associem o tabagismo a risco aumentado de cancro da próstata, Gong, et al. (2008), observaram que comparativamente com um grupo de não fumadores (nunca fumadores), o tabagismo activo aquando do diagnóstico de cancro da próstata em homens com idade inferior a 65 anos, numa amostra populacional independentemente do estadio e tipo de tratamento, é um factor de mau prognóstico, nomeadamente pelo aumento da mortalidade específica (Hickey et al. 2001; Gong et al. 2008). Contudo não foi avaliado o efeito sobre a mortalidade dos indivíduos com cancro da próstata que deixaram fumar após terem tido conhecimento do diagnóstico, apesar de, presumivelmente, se houver efeito, seja o de diminuir a taxa de mortalidade. Pelos mecanismos fisiopatológicos já expostos, é assim possível que o tabagismo seja responsável pela aquisição de um fenótipo tumoral mais agressivo, e que deixar de fumar após o diagnóstico seja uma forma de abrandar a progressão da doença após a instituição da terapêutica.

Plaskon et al. (2003), num estudo epidemiológico, concluíram uma modesta associação positiva entre fumar e risco de cancro da próstata. Sobretudo em algumas categorias esse risco foi mais acentuado, nomeadamente, actuais fumadores, fumadores há mais de 40 anos (mesmo não sendo fumadores actualmente) e fumadores expostos a mais de 40 unidades UMA, com um risco de doença aumentado em 40-60% relativamente aos não fumadores. Observou-se ainda uma associação mais forte em homens com doença clinicamente mais agressiva reforçando a ideia de que o tabaco tem uma acção importante sobre o curso da doença, nomeadamente na aquisição a nível celular de um fenótipo mais agressivo. Além disso, deixar de fumar parece reduzir o risco de cancro da próstata, 10 ou mais anos após a cessação, observando-se inclusivamente que após mais de 20 anos estes homens não tinham risco superior de cancro da próstata em comparação com homens que nunca fumaram (Plaskon et al. 2003). O Health Professionals Follow-Up Study, mostrou que homens que fumaram  $\geq 15$  UMA tinham maior risco de desenvolver doença metastática e maior probabilidade de morrer por cancro da próstata do que os não fumadores

(Giovannucci et al. 1999). Rohrmann et al. (2007), não encontraram uma associação estatisticamente significativa entre o tabagismo e a mortalidade ou incidência do cancro da próstata. Contudo, actuais fumadores e ex-fumadores tendem a ter uma maior mortalidade por esta neoplasia durante os primeiros 10 anos de follow-up, em comparação com indivíduos que nunca fumaram (Rohrmann et al.2007)

Estes resultados devem ter um impacto importante a nível de saúde pública, não só na educação para a melhoria dos hábitos e estilo de vida dos doentes, mas também para os profissionais de saúde no sentido de adoptar campanhas de prevenção e de cessação tabágica, como forma de prevenção primária do cancro da próstata.

## **Conclusões**

O cancro da próstata é uma doença de etiologia multifactorial, de elevadas incidência e mortalidade. Os factores ambientais são, provavelmente, aqueles que mais contribuem para a maioria dos casos. A relação entre tabagismo e cancro da próstata não é clara, no entanto parece existir uma maior incidência de adenocarcinoma pouco diferenciado, doença mais invasiva e maior mortalidade em fumadores e o risco conferido parece ser mais proeminente em indivíduos que acumulam outros factores de risco para a doença, nomeadamente polimorfismos genéticos que conferem menor actividade para enzimas com conhecida actividade detoxificante para alguns dos carcinogénios presentes no fumo do cigarro. Para além disso, os efeitos do tabaco parecem ser dependentes de dose. Os compostos presentes no fumo de cigarro mais implicados na carcinogénese são os PAHs, N-nitrosaminas e aminas aromáticas heterocíclicas, todos eles compostos que formam aductos de DNA e com acções mutagénicas e epigenéticas, assumindo um papel importante sobretudo no processo inicial da carcinogénese. Os PAHs também produzem aumento da expressão da ANP32A e da ciclofilina A, também aumentadas em outras neoplasias, aumento da expressão de MMP-9,

associado a uma maior capacidade de invasão local e metastização e aumento da proliferação celular em células da tiróide. O tabagismo provoca silenciamento de genes supressores tumorais e de enzimas destoxicantes por hipermetilação dos ilhéus CpG das regiões promotoras. Contudo, o estado de hipermetilação é menor nos ex-fumadores o que sugere que deixar de fumar possa diminuir o risco de cancro da próstata. Fumadores activos apresentam níveis significativamente mais elevados de testosterona e de SHBG, contudo, uma revisão de estudos sobre o efeito do tabaco nos níveis séricos das hormonas testosterona, estradiol, estrona, androstenediona e dihidroepiandrosterona, mostra que não é claro que o efeito anti-estrogénico do tabaco seja um factor de risco para o cancro da próstata. Além disso, o tabaco contém níveis significativos de cádmio, um metal pesado implicado também na carcinogénese prostática em animais, que aumenta a actividade transcripcional do AR em humanos, mas cuja associação com a incidência de cancro da próstata não é concordante entre os vários estudos epidemiológicos. O fumo de tabaco contém agentes oxidantes, aumenta a produção ROS, diminui as defesas antioxidantes (diminuição das vitaminas A e C e em menor extensão a glutathione S-transferase) e é promotor de inflamação sistémica o que terá provavelmente um papel na etiologia desta doença. Certos polimorfismos genéticos estão associados a aumento do risco de cancro da próstata em fumadores, como o polimorfismo Ile105Val para a glutathione S-transferase. A doença é também mais prevalente em indivíduos fumadores com o genótipo AA da Manganésio Superóxido Dismutase (MnSOD) e e/ou que tenham um genótipo de acetiladores rápidos para a N-acetil-transferase (NAT1). O tabaco aumenta a produção e libertação de espécies reactivas de oxigénio (ROS) por células do sangue periférico e a contagem periférica de leucócitos polimorfonucleados, e diminui a actividade das células natural killer e dos linfócitos T supressores. No entanto não é claro que exista um papel destas alterações no sistema imunitário na carcinogénese e progressão do cancro da próstata.

Como muitos dos compostos presentes no fumo de cigarro são potenciais carcinogénios, a redução dos seus níveis no fumo de cigarro deve ser considerada como uma forma importante de reduzir o risco de cancro, nomeadamente através da reformulação ou desenvolvimento de novos tipos de

cigarros que produzam menor quantidade dos produtos identificados como perigosos para a saúde humana. Além disso, é provável que a cessação tabágica diminua a probabilidade de doença invasiva e a mortalidade.

## Bibliografia

- Andreeva L, Heads R, Green CJ (1999) Cyclophilins and their possible role in the stress response. *Int J Exp Pathol* 80:305-15.
- Ansari MS, Gupta NP, Hemal AK (2002) Chemoprevention of carcinoma prostate: A review. *Int Urol Nephrol* 34:207-14.
- Bai J, Brody JR, Kadkol SS, Pasternack GR (2001) Tumor suppression and potentiation by manipulation of pp32 expression. *Oncogene* 20:2153-60.
- Beckman KB, Ames BN (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 78:547-81.
- Borgerding M, Klus H (2005) Analysis of complex mixtures -- Cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol* 57:43-73.
- Bosetti C, Bertuccio P, Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C (2008) Cancer mortality in the European Union, 1970-2003, with a jointpoint analysis. *Ann Oncol* 19:631-40.
- Brody JR, Kadkol SS, Hauer MC, Rajaii F, Lee J, Pasternack GR (2004) pp32 reduction induces differentiation of TSU-Pr1 cells. *Am J Pathol* 164:273-283.
- Brody JR, Kadkol SS, Mahmoud MA, Rebel JM, Pasternack GR (1999) Identification of sequences required for inhibition of oncogene-mediated transformation by pp32. *J Biol Chem* 274:20053-55.
- Cerhan JR, Parker AS, Putnam SD, Chiu BC, Lynch CF, Cohen MB, Torner JC, Cantor KP (1999) Family history and prostate cancer risk in a population-based cohort of Iowa men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8:53-60.
- Cha MK, Suh KH, Kim IH (2009) Overexpression of peroxiredoxin I and thioredoxin I in human breast carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 28:93.
- Chang JW, Jeon HB, Lee JH, Yoo JS, Chun JS, Kim JH, Yoo YJ (2001) Augmented expression of peroxiredoxin I in lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 289:507-12.
- Chaudhary A, Pechan T, Willett KL (2007) Differential protein expression of peroxiredoxin I and II by benzo(a)pyrene and quercetin treatment in 22Rv1 and PrEC prostate cell lines. *Toxicol Appl Pharmacol* 220:197-210.
- Choi KJ, Piao YJ, Min JL, Kim JH, Ha J, Choe W, Kim SS (2007) Overexpressed cyclophilin A in cancer cells renders resistance to hypoxia- and cisplatin-induced cell death. *Cancer Res* 67:3654-62.
- Choi J, Neuhaus ML, Barnett M, Hudson M, Kristal AR, Thornquist M, King IB, Goodman GE, Ambrosone CB (2007) Polymorphisms in oxidative stress-related genes are not associated with prostate cancer risk in heavy smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:1115-20.
- Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 92:61-8.
- Cooney KA, Wetzel JC, Merajver SD, et al. (1996) Distinct regions of allelic loss on 13q in prostate cancer. *Cancer Res* 56:1142-5.
- Counts ME, Morton MJ, Laffoon SW, Cox RH, Lipowicz PJ (2005) Smoke composition and predicting relationships for international commercial cigarettes smoked with three machine-smoking conditions. *Regul Toxicol Pharmacol* 41:185-227.
- Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. *Nature* 420: 860-7.
- Cross AJ, Peters U, Kirsh VA, Andriole GL, Reding D, Hayes RB, Sinha R (2005) A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. *Cancer Res* 65:11779-84.
- Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ, Sugimura Y (1987) The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Soc* 8:338-362.
- Dai WS, Gutai JP, Kuller LH, Cauley JA (1988) Cigarette smoking and serum sex hormones in men. *Am J Epidemiol* 128:796-805.
- Ding YS, Trommel JS, Yan XJ, Ashley D, Watson CH (2005) Determination of 14 polycyclic

aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from domestic cigarettes. *Environ Sci Technol* 39:471-478.

- Downing SR, Russell PJ, Jackson P (2003) Alterations of p53 are common in early stage prostate cancer. *Can J Urol* 10:1924-33.
- Doyle V, Virji S, Crompton M (1999) Evidence that cyclophilin-A protects cells against oxidative stress. *Biochem J* 341:127-32.
- Enokida H, Shiina H, Urakami S, Terashima M, Oqishima T, Li LC, Kawahara M, Nakagawa M, Kane CJ, Carroll PR, Igawa M, Dahiya R (2006) Smoking influences aberrant CpG hypermethylation of multiple genes in human prostate carcinoma. *Cancer* 106:79-86.
- van Eeden SF, Hogg JC (2000) The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. *Eur Respir J* 15:915-21.
- EPA (1980) Ambient Water Quality Criteria for PAH; EPA 440/5-80-069, US Environmental Protection Agency: Washington, DC.
- EPA (1986) Quality Criteria for Water; EPA 440/5-86-001, US Environmental Protection Agency: Washington, DC.
- Fan R, Kumaravel TS, Jalali F, Marrano P, Squire JA, Bristow RG (2004) Defective DNA strand break repair after DNA damage in prostate cancer cells: implications for genetic instability and prostate cancer progression. *Cancer Res* 64:8526-33.
- Ferrini RL, Barrett-Connor E (1998) Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community dwelling men. *Am J Epidemiol* 147:750-754.
- Finkel T, Holbrook NJ (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408:239-47.
- Freidovich, I (1999) Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann NY Acad Sci*, 893,13.
- Fujihara M, Nagai N, Sussan TE, Biswal S, Handa JT (2008) Chronic cigarette smoke causes oxidative damage and apoptosis to retinal pigmented epithelial cells in Mice. *PLoS One* 3:e3119.
- Gann PH, Hennekens CH, Sacks FM, Grodstein F, Giovannucci EL, Stampfer MJ (1994) Prospective study of plasma fatty acids and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 86:281-6.
- Gann PH, Ma J, Giovannucci E, Willett W, Sacks FM, Hennekens CH, Stampfer MJ (1999) Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. *Cancer Res* 59:1225-30.
- Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Colditz GA, Spiegelman D, Stampfer MJ, Willett WC (1999) Smoking and risk of total and fatal prostate cancer in United States health professionals. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 8:277-82.
- Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Ascherio A, Chute CC, Willett WC (1993) A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 85:1571-9.
- Gooderham N, Murray S, Lynch AM, Edwards RJ, Yadollahi-Farsani M, Bratt C, Rich KJ, Zhao K, Murray BP, Bhadresa S, Crosbie SJ, Boobis AR, Davies DS (1996) Heterocyclic amines: evaluation of their role in diet associated human cancer. *Br J Clin Pharmacol* 42:91-98.
- Gong Z, Agalliu I, Lin DW, Stanford JL, Kristal AR (2008) Cigarette smoking and prostate cancer-specific mortality following diagnosis in middle-aged men. *Cancer Causes Control* 19:25-31.
- Gross GA, Turesky RJ, Fay LB, Stillwell WG, Skipper PL, Tannenbaum SR (1993) Heterocyclic aromatic amine formation in grilled bacon, beef and fish and in grill scrapings. *Carcinogenesis* 14:2313-8.
- Guo W, He M, Yang Z, Quan X, Men B (2009) Distribution, partitioning and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in Daliao River water system in dry season, China. *J Hazard Mater* 164:1379-85.

- Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, Drugge RJ, Speicher DW (1984) Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A. *Science* 226:544-7.
- Haque M, Francis J, Sehgal I (2005) Aryl hydrocarbon exposure induces expression of MMP-9 in human prostate cancer cell lines. *Cancer Letters* 225:159-66.
- Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GC, Wolf CR (1997) Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase k locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 18:641-4.
- Hecht SS, Carmella SG, Foiles PG, Murphy SE (1994) Biomarkers for human uptake and metabolic activation of tobacco-specific nitrosamines. *Cancer Res* 54:1912s-1917s.
- Hecht SS (1997) Approaches to chemoprevention of lung cancer based on carcinogens in tobacco smoke. *Environ Health Perspect* 105:955-63.
- Hecht SS (1998) Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol* 11:559-603.
- Hecht SS (1999) Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 91: 1194-1210.
- Hecht SS (2006) Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms. *Langenbecks Arch Surg* 391:603-613.
- Hecht SS (2008) Progress and challenges in selected areas of tobacco carcinogenesis. *Chem Res Toxicol* 21:160-171.
- Heidenberg HB, Sesterhenn IA, Gaddipati JP, et al. (1995) Alteration of the tumor suppressor gene p53 in a high fraction of hormone refractory prostate cancer. *J Urol* 154:414–21.
- Hickey K, Do K, Green A (2001) Smoking and prostate cancer. *Epidemiol Rev* 23:115-25.
- Hoffmann D, Hoffmann I, El Bayoumy K (2001) The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L. Wynder. *Chem Res Toxicol* 14:767–790.
- Hoffmann D, Hoffmann I (1997) The changing cigarette, 1950-1995. *J Toxicol Environ Health* 50, 307-364.
- Hsing AW, Tsao L, Devesa SS (2000) International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int J Cancer* 85:60-7.
- Hughes DA, Haslam PL, Townsend PJ, Turner-Warwick M (1985) Numerical and functional alterations in circulatory lymphocytes in cigarette smokers. *Clin Exp Immunol* 61:459-66.
- Hussain F, Aziz H, Macchia R, Avitable M, Rotman M (1992) High grade adenocarcinoma of prostate in smokers of ethnic minority groups and Caribbean Island immigrants. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 24:451-461.
- Hussain A, Dawson N (2000) Management of advanced/metastatic prostate cancer: 2000 update. *Oncology (Williston Park)* 14:1677–88; discussion 1688, 1691-4.
- IARC (2004) Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 83.
- IARC (2007) Smokeless tobacco and some tobacco-specific nitrosamines. 89:1-592.
- Iguchi T, Sugita S, Wang CY, Newman NB, Nakatani T, Haas GP (2009) MnSOD Genotype and Prostate Cancer Risk as a Function of NAT Genotype and Smoking Status. *In vivo* 23:7-12.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ (2009) Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 59:225-249.
- Jiang X, Kim HE, Shu H, Zhao Y, Zhang H, Kofron J, Donnelly J, Burns D, Nq SC, Rosenberg S, Wang X (2003) Distinctive roles of PHAP proteins and prothymosin-alpha in a death regulatory pathway. *Science* 299:223-226.
- Jones PA, Baylin SB (2007) The epigenomics of cancer. *Cell* 128:683–692.
- Kadkol SS, Brody JR, Epstein JI, Kuhajda FP, Pasternack GR (1998) Novel nuclear phosphoprotein pp32 is highly expressed in intermediate- and high-grade prostate cancer. *Prostate* 34:231-7.
- Kamangar F, Schantz MM, Abnet CC, Fagundes RB, Dawsey SM 2008 High levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in mate drinks. *Cancer Epidemiol Biomarkers*

Prev 17(5):1262-8.

- Kelada SN, Kardia SL, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB, Rebbeck TR (2000) The glutathione S-transferase- $\mu$  and  $-\theta$  genotypes in the etiology of prostate cancer: genotype-environment interactions with smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:1329-34.
- Kolonel LN, Nomura AM, Hinds MW, Hirohata T, Hankin JH, Lee J (1983) Role of diet in cancer incidence in Hawaii. *Cancer Res* 43:2397s-2402s.
- Kooiman GG, Martin FL, Williams JA, Grover PL, Phillips DH, Muir GH (2000) The influence of dietary and environmental factors on prostate cancer risk. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 3:256-258.
- Krstev S, Baris D, Stewart P, Dosemeci M, Swanson GM, Greenberg RS, Schoenberg JB, Schwartz AG, Liff JM, Hayes RB (1998) Occupational risk factors and prostate cancer in U.S. blacks and whites. *Am J Ind Med* 34:421-30.
- Kupper H, Boffetta P, Adami HO (2002) Tobacco use and cancer causation: association by tumour type. *J Intern Med* 252:206-24.
- Laird PW (2003) The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer* 3:253-266.
- Smoking and immunity (1990) (Editorial). *Lancet* 335:1561-3.
- Li H, Kantoff PW, Giovannucci E, Leitzmann MF, Gaziano JM, Stampfer MJ, Ma J (2005) Manganese superoxide dismutase polymorphism, prediagnostic antioxidant status, and risk of clinical significant prostate cancer. *Cancer Res* 65:2498-504.
- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K (2000) Environmental and heritable factors in the causation of cancer - analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 343:78-85.
- Lijinsky W, Shubik P (1964) Benzo(a)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat. *Science* 145:53-5.
- Lin X, Tascilar M, Lee WH, Vles WJ, Lee BH, Veeraswamy R, Asqari K, Freije D, vann Rees B, Gage WR, Bova GS, Issacs WB, Brooks JD, DeWeese TL, De Marzo AM, Nelson WG (2001) GSTP1 CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. *Am J Pathol* 159:1815-26.
- Mackay J, Eriksen M (2002) The tobacco atlas. World Health Organization, Geneva.
- Mao GE, Morris G, Lu QY, Cao W, Reuter VE, Cordon-Cardo C, Dalbaqni G, Scher HI, deKernion JB, Zhang ZF (2004) Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism, cigarette smoking and prostate cancer. *Cancer Detect Prev* 28:368-74.
- Marsit CJ, Kim DH, Liu M, Hinds PW, Wiencke JK, Nelson HH, Kelsey KT (2005) Hypermethylation of RASSF1A and BLU tumor suppressor genes in nonsmall cell lung cancer: implications for tobacco smoking during adolescence. *Int J Cancer* 114:219-223.
- Meiers I, Shanks JH, Bostwick DG (2007) Glutathione S-transferase pi (GSTP1) hypermethylation in prostate cancer: review 2007. *Pathology* 39:299-304.
- Muzandu K, Shaban Z, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S (2005) Nitric oxide enhances catechol estrogen-induced oxidative stress in LNCaP cells. *Free Radic Res* 39:389-98.
- Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J, Isaacs WB, De Marzo AM, Groopman JD, Nelson WG, Kensler TW (2001) Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. *Cancer Res* 61:103-9.
- Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB (2003) Prostate cancer. *N Engl J Med* 349:366-81.
- Nebert DW, Vasiliou V (2004) Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum Genomics* 1:460-64.
- Nora NL, Liu X, Cicek MS, Li L, Macarie F, Rybicki BA, Plummer SJ, MacLennan GT, Casey G, Witte JS (2006) Polymorphisms in polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and conjugation genes, interactions with smoking and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:756-61.

- Novo E, Parola M (2008) Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 1:5.
- Park S, Yu X, Ip C, Mohler JL, Bogner PN, Park Y (2007) Peroxiredoxin 1 interacts with androgen receptor and enhances its transactivation. *Cancer Res* 67:9294:303.
- Pelicano H, Carney D, Huang P (2004) ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat* 7:97-110.
- Plaskon LA, Penson DF, Vaughan TL, Stanford JL (2003) Cigarette smoking and risk of prostate cancer in middle-aged men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12:604-9.
- Rebbeck TR (1997) Molecular epidemiology of human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:733-43.
- Rohrmann S, Genkinger J, Burke A, Helzlsouer K, Comstock G, Alberg A, Platz E (2007) Smoking and risk of fatal prostate cancer in a prospective US study. *Urology* 69:721-25.
- Rybicki BA, Rundle A, Savera AT, Sankey SS, Tang D (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in prostate cancer. *Cancer Res* 64:8854-9.
- Rybicki BA, Neslund-Dudas C, Nock NL, Schultz LR, Eklund L, Rosbalt J, Bock CH, Monaghan KG (2006) Prostate cancer risk from occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons interacting with the GSTP1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Detect Prev* 30:412-22.
- Rybicki BA, Nock NL, Savera AT, Tang D, Rundle A (2006) Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct formation in prostate carcinogenesis. *Cancer Lett* 239:157-167.
- Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD, Heilbrun LK, Cassin BJ, Pontes JJ, Haas GP (1994) High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *In Vivo* 8:439-43.
- Sarir H, Mortaz E, Karimi K, Kraneveld AD, Rahman I, Caldenhoven E, Nijkamp FP, Folkerts G (2009) Cigarette smoke regulates the expression of TLR4 and IL-8 production by human macrophages. *J Inflamm (Lond)* 6:12.
- Sterling KM, Cutroneo KR (2004) Constitutive and inducible expression of cytochromes P4501A (CYP1A1 and CYP1A2) in normal prostate and prostate cancer cells. *J Cell Biochem* 91:423-9.
- Stuart GR, Holcroft J, de Boer JG, Glickman BW (2000) Prostate mutations in rats induced by the suspected human carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Cancer Res* 60:266-8.
- Tamimi RM, Lagiou P, Adami HO, Trichopoulos D (2002) Prospects for chemoprevention of cancer. *J Intern Med* 251:286-300.
- Tang D, Liu JJ, Rundle A, Neslund-Dudas C, Savera AT, Bock CH, Nock NL, Yang JJ, Rybicki BA (2007) Grilled meat consumption and PhIP-DNA adducts in prostate carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:803-808.
- Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H (1995) Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett* 358:1-3.
- Turesky RJ, Lang NP, Butler MA, Teitel CH, Kadlubar FF (1991) Metabolic activation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines by human liver and colon. *Carcinogenesis* 12:1839-45.
- Waalkes MP (2000) Cadmium carcinogenesis in review. *J Inorg Biochem* 79:241-244.
- Wang CY, Debiec-Rychter M, Schut HA, Morse P, Jones RF, Archer C, King CM, Haas GP (1999) N-acetyltransferase expression and DNA binding of N-hydroxyheterocyclic amines in human prostate epithelium. *Carcinogenesis* 20:1591-95.
- Whittemore AS, Kolonel LN, Wu AH, John EM, Gallagher RP, Howe GR, Burch JD, Hankin J, Dreon DM, West DW, et al. (1995) Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. *J Natl Cancer Inst* 87:652-61.
- Wiencke JK (2002) DNA adduct burden and tobacco carcinogenesis. *Oncogene* 21:7376-91.

- Woodson K, Tangrea JA, Lehman TA, Modali R, Taylor KM, Snyder K, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2003) Manganese superoxide dismutase (MnSOD) polymorphism, alpha-tocopherol supplementation and prostate cancer risk in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study (Finland) *Cancer Causes Control* 14:513-8.
- World Health Organization (1993) Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Wright SC, Zhong J, Zheng H, Larrick JW (1993) Nicotine inhibition of apoptosis suggests a role in tumor promotion. *FASEB J* 7:1045-1051.
- Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma. A study of 684 proved cases. *J Am Med Assoc* 143:329-336.
- Xu J, Yu Y, Wang P, Guo W, Dai S, Sun H (2007) Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments from Yellow River, China. *Chemosphere* 67(7):1408-14.
- Yanagawa T, Ishikawa T, Ishii T, Tabuchi K, Iwasa S, Bannai S, Omura K, Suzuki H, Yoshida H (1999) Peroxiredoxin I expression in human thyroid tumors. *Cancer Lett* 145:127-32.
- Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF (2007) Systemic effects of smoking. *Chest* 131:1557-66.
- Ye J, Wang S, Barger M, Castranova V, Shi X (2000) Activation of androgen response element by cadmium: a potential mechanism for a carcinogenic effect of cadmium in the prostate. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 19:275–280.
- Zanieri L, Galvan P, Checchini L, Cincinelli A, Lepri L, Donzelli GP, Del Bubba M (2007) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk from Italian women: influence of cigarette smoking and residential area. *Chemosphere* 67(7):1265-74..