

ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS TNF α -308 (rs1800629) E COX-2 (rs2745557) E SUAS ASSOCIAÇÕES COM O CÂNCER DE PRÓSTATA EM UMA AMOSTRA DE HOMENS DO SUL DA BAHIA

Letícia Narciso Veiga¹, Michelly Oliveira Gomes², Maria
Luiza Silva Pires³, Luis Felipe de Jesus Arcanjo⁴, Patrícia
Santos Pereira Lima⁵, Sandra Mara Bispo Sousa⁶

RESUMO: No Brasil o câncer de próstata (CaP) é o mais comum entre os homens, em 2021, na Bahia, 1,3 mil homens foram acometidos pela patologia. Esse câncer torna-se mais comum a partir dos 65 anos. Embora mortal, seu prognóstico é geralmente positivo, quando diagnosticado precocemente. Existem fatores que determinam o risco de desenvolvimento do CaP, dentre eles a idade avançada, origem étnica (maior incidência em negros), etilismo e tabagismo; dentre os fatores genéticos, alguns polimorfismos como do grupo de citocinas TNF α (Fator de Necrose Tumoral alfa) e da enzima COX-2 (Ciclooxigenase-2), que desempenham papéis significativos na resposta imune têm sido associados ao desenvolvimento e progressão do câncer de próstata. Esse estudo teve como objetivo analisar a associação entre os polimorfismos do TNF α -308 G/A e do COX-2 com o câncer de próstata em uma amostra de homens da região Sul da Bahia. Para o TNF α -308 foram utilizadas 61 amostras (51 casos, 10 controles) e no COX-2, 175 amostras (85 casos, 90 controles), ambos foram genotipados com o uso da técnica de PCR-RFLP (Reação em cadeia da polimerase com polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição) seguida da digestão com endonucleases de restrição *NcoI* e *PvuII*, respectivamente para o TNF α -308 e COX-2. Os produtos das reações foram observados em géis de agarose. As análises estatísticas foram feitas no programa estatístico SPSS® v.29.0.1.0. As análises de frequências genotípicas demonstrou que para o *locus* TNF α -308, as amostras desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), com $p < 0,05$ e na análise de tabulação cruzada, o modelo recessivo apresentou resultado estatisticamente significativo de que os portadores do genótipo "GG" são mais susceptíveis a desenvolver o CaP, juntamente com o fator nível de escolaridade aplicando a regressão linear. No *locus* COX-2, os casos e controles estão em EHW ($p > 0,05$), mas nenhuma associação foi encontrada entre o polimorfismo e o CaP e nem para as variáveis sociodemográficas. O pequeno número amostral, a miscigenação das amostras ou a maior frequência das variantes analisadas e o CaP, podem explicar os resultados encontrados neste trabalho, contrariando os dados da literatura, onde aborda que as relações entre variações genéticas no TNF α -308 e COX-2 com o risco de CaP diferem entre populações, influenciadas por diferentes fatores genéticos e ambientais. Faz-se necessário um estudo contínuo e ampliado sobre o tema e estas variantes.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer de Próstata, CaP, TNF α -308, COX-2, polimorfismos, análises estatísticas, SPSS.

FAPESB- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- Departamento de Ciências Naturais:

¹leticianv_99@hotmail.com;

²michellyg090@gmail.com;

³malusilvapires104@gmail.com;

⁴luisf5726.lfa@gmail.com; ⁵psplima@uesb.edu.br; ⁶sandra.mara@uesb.edu.br.

ANALYSIS OF POLYMORPHISMS TNF α -308 (rs1800629) AND COX-2 (rs2745557) AND THEIR ASSOCIATIONS WITH PROSTATE CANCER IN A SAMPLE OF MEN FROM SOUTHERN BAHIA.

ABSTRACT: In Brazil, prostate cancer (CaP) is the most prevalent among men. In 2021, in Bahia, 1.3 thousand men were diagnosed with this condition. This type of cancer becomes more common from the age of 65 onwards. Although it can be fatal, its prognosis is generally positive when detected early. There are several factors that influence the risk of developing CaP, including advanced age, ethnic origin (with a higher incidence in Black individuals), alcohol consumption, and smoking. Among the genetic factors, certain polymorphisms, such as those in the cytokine group TNF α (Tumor Necrosis Factor alpha) and the enzyme COX-2 (Cyclooxygenase-2), which play significant roles in immune response, have been linked to the development and progression of prostate cancer. This study aimed to analyze the association between the TNF α -308 G/A and COX-2 polymorphisms and prostate cancer in a sample of men from the Southern region of Bahia. For TNF α -308, 61 samples were used (51 cases, 10 controls), and for COX-2, 175 samples (85 cases, 90 controls). Both were genotyped using the PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction with Restriction Fragment Length Polymorphism) technique followed by digestion with the NcoI and PvuII restriction endonucleases, respectively for TNF α -308 and COX-2. The products of these reactions were visualized on agarose gels. Statistical analyses were conducted using the SPSS® software v.29.0.1.0. Genotypic frequency analyses showed that for the TNF α -308 locus, the samples deviated from the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) with $p < 0.05$. In the cross-tabulation analysis, the recessive model indicated that individuals with the "GG" genotype are more likely to develop CaP, especially when considering education level through linear regression. For the COX-2 locus, both cases and controls are in HWE ($p > 0.05$), but no association was found between the polymorphism and CaP or sociodemographic variables. The limited sample size, genetic admixture, or the higher frequency of the analyzed variants in relation to CaP might explain these findings. This contrasts with literature data which suggests that the relationships between genetic variations in TNF α -308 and COX-2 and the risk of CaP differ among populations, influenced by various genetic and environmental factors. Further extensive research on this topic and these variants is essential.

KEYWORDS: Prostate Cancer, CaP, COX-2, TNF α -308, polymorphisms, statistical analyses, SPSS.

INTRODUÇÃO

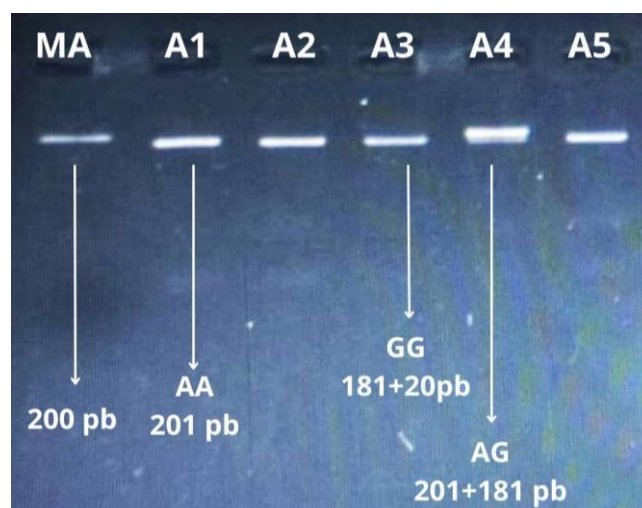
O câncer de próstata é um dos tumores malignos mais frequentes em homens globalmente, em especial no Brasil, no estado da Bahia, observa-se uma taxa de 18,7 vítimas a cada 100 mil homens. A incidência varia entre regiões, apontando para a influência de fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento da doença. Recentemente, esforços têm sido feitos para identificar marcadores genéticos associados ao risco de câncer de próstata, como os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Dentre eles, o TNF α -308 (rs1800629) e o da COX-2 (rs2745557) têm se destacado. O gene TNF α codifica o Fator de Necrose Tumoral alfa, uma citocina envolvida em respostas inflamatórias e imunológicas. O polimorfismo rs1800629 pode alterar a expressão dessa citocina, impactando no risco de câncer devido à relação entre a inflamação e a oncogênese. O gene COX-2, por sua vez, codifica a enzima ciclooxigenase-2, envolvida na formação de mediadores inflamatórios. O

SNP rs2745557 pode influenciar essa via, tendo consequências no equilíbrio entre proliferação e morte celular, relevantes no contexto tumoral. Ambos os polimorfismos são potenciais indicadores na modulação do risco de câncer de próstata, assim aprofundar o estudo de suas associações com a doença pode oferecer *insights* para diagnóstico precoce, um desafio importante na oncologia.

MATERIAL E MÉTODOS

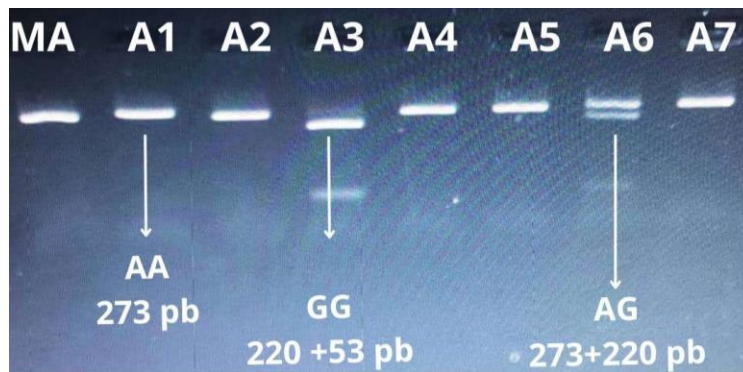
Para a análise do TNF α -308, foram utilizadas 61 amostras (51 casos e 10 controles) e no COX-2, 175 amostras (85 casos e 90 controles), por meio da técnica da PCR-RFLP (Reação em cadeia da polimerase com polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição) com uso das endonucleases de restrição *NcoI* e *PvuII* (segundo o protocolo recomendado pelos fabricantes), respectivamente para o TNF α -308 e COX-2. Os produtos das reações foram observados em géis de agarose de 2% e 4%, corados com brometo de etídeo e visualizados em transluminador com luz UV, para que fosse possível identificar e genotipar os fragmentos de DNA (ácido desoxirribonucleico) obtidos nos experimentos. O TNF α -308 apresenta os genótipos AA (201 pares de bases-pb), AG (201+181 pbs) e GG (181+20 pb), (Figura 1); a COX-2, apresenta o padrão genotípico AA (273 pb), AG (273+220 pb) e GG (220+56 pb), (Figura 2). As análises estatísticas foram feitas no programa estatístico SPSS® v.29.0.1.0, utilizando os mesmos testes para ambos os polimorfismos: frequências alélica e genotípica, tabulação cruzada, qui-quadrado, ANOVA, regressão linear, com os valores de intervalo de confiança ($p < 0,05$) e razão de chances (OR).

FIGURA 1: Padrão de digestão obtido no TNF α -308G/A.



Fonte: Autor. Legenda: M= marcador não-digerido; A1-A5= amostras; pb= pares de base; AA = genótipo homocigoto para a ausência do sítio de restrição; AG = genótipo heterocigoto; e GG = genótipo homocigoto para a presença do sítio de restrição.

FIGURA 2: Padrão de digestão obtido na COX-2.



Fonte: Autor. Legenda: MA= marcador não-digerido; A1-A7= amostras; pb= pares de base; AA = genótipo homocigoto para a ausência do sítio de restrição; AG = genótipo heterocigoto; e GG = genótipo homocigoto para a presença do sítio de restrição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das frequências genóticas demonstraram que para o *locus* TNF α -308, as amostras de casos e controles não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), com $p < 0,05$ e na análise de tabulação cruzada, o modelo recessivo apresentou resultado estatisticamente significativo de que os portadores do genótipo "GG" são mais susceptíveis a desenvolver o CaP. A análise de regressão linear mostrou resultados significativos para o nível de escolaridade, sugerindo que pode haver fatores socioeconômicos ou de estilo de vida associados ao desenvolvimento dessa doença. No *locus* COX-2, os casos e controles estão em EHW, $p > 0,05$, e nenhuma associação foi encontrada entre o polimorfismo e o CaP e nem para as variáveis sociodemográficas. O que entra em confronto com a literatura, onde o genótipo "GG" da COX-2 se associa significativamente com um maior risco de CaP, e a presença do alelo *G também se correlaciona com formas metastáticas e agressivas desta doença. No polimorfismo em foco neste trabalho da COX-2, estudos abordam que quando a prostaglandina por ela produzida está superexpressa e auxilia no crescimento tumoral, sua associação com fatores de risco como etnia e localização geográfica podem intensificar este processo. No polimorfismo do TNF α -308G/A há pesquisas que mostram que a influência do alelo *A na região promotora do gene TNF está associada ao aumento da expressão de TNF α , o que pode contribuir para o desenvolvimento do câncer de próstata em uma população branca na Espanha, porém, isso pode variar a depender dos fatores de risco já mencionados, por exemplo, no presente estudo o alelo relacionado ao risco do CaP foi o *G. O efeito do polimorfismo TNF- α -308G/A pode ser mascarado por outros genes, ainda desconhecidos, que desempenham um papel no surgimento do CaP.

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

O pequeno número amostral, a miscigenação das amostras ou a maior frequência das variantes analisadas e o CaP, podem explicar os resultados encontrados neste trabalho. Portanto, faz-se necessário um estudo contínuo sobre o tema e destas variantes, para que haja uma maior compreensão de como estes polimorfismos se associam ao câncer de próstata.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FAWZY, M. S. et al. Cyclooxygenase 2 (rs2745557) Polymorphism and the Susceptibility to Benign Prostate Hyperplasia and Prostate Cancer in Egyptians. **Biochemical Genetics**, v. 54, n. 3, p. 326-336, 26 fev. 2016.
2. FUJITA, H. et al. Cyclooxygenase-2 promotes prostate cancer progression. **The Prostate**, v. 53, n. 3, p. 232-240, 17 out. 2002.
3. LIANG, Gaozhao et al. Lack of association between TNF α rs1800629 polymorphism and prostate cancer risk: a meta-analysis. **Int J Clin Exp Med**, v. 9, n. 6, p. 9373-9380, 2016.
4. LUCIA, M. S.; TORKKO, K. C. Inflammation as a Target for Prostate Cancer Chemoprevention: Pathological and Laboratory Rationale. **The Journal of Urology**, v. 171, n. 2, Supplement, p. S30-S35, 1 fev. 2004.
5. MA, L. et al. Association between Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis. **Diagnostic Pathology**, v. 9, n. 1, p. 74, 2014.
6. MEDEIROS, A. P. DE; MENEZES, M. DE F. B. DE; NAPOLEÃO, A. A. F. Fatores de risco e medidas de prevenção do câncer de próstata: subsídios para a enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 64, n. 2, p. 385-388, abr. 2011.
7. OH, B. R. et al. Frequent genotype changes at -308, and 488 regions of the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene in patients with prostate cancer. **The Journal of Urology**, v. 163, n. 5, p. 1584-1587, 1 maio 2000.
8. **SEI - Dados apontam câncer de próstata entre as principais causas naturais de morte entre homens na Bahia.** Disponível em: https://sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=3755:dados-apontam-cancer-de-prostata-entre-as-principais-causas-naturais-de-morte-entre-homens-na-bahia&catid=9&Itemid=1073&lang=pt. Acesso em: 29 set. 2023.
9. RHODEN, E. L.; AVERBECK, M. A. Câncer de próstata localizado. **Rev. AMRIGS**, p. 92-99, 2010.
10. SUGIE, S. et al. Cyclooxygenase 2 genotypes influence prostate cancer susceptibility in Japanese Men. **Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 35, n. 3, p. 2717-2721, 1 mar. 2014.