

FOXM1: INVESTIGAÇÃO DE SEU IMPACTO NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA EM UMA COORTE DO RIO DE JANEIRO

FOXM1: INVESTIGATION OF ITS IMPACT ON PROSTATE CANCER DEVELOPMENT IN A RIO DE JANEIRO COHORT

Autores: Alessandra Lima Dias¹, Yasmin dos Santos Silva Rodrigues da Costa², Gabriella de Medeiros Abreu^{3,4}, Gabriella Oliveira Alves Moreira de Carvalho^{5,6,7}, Tamara Silva^{3,4}, Ana Carolina Proença da Fonseca^{8,9,10}.

Filiação: ¹Bolsista de Treinamento de Capacitação Técnica do Laboratório de Genética – LabGen, AFYA/Universidade do Grande Rio, Rio de Janeiro, Brasil; ²Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional, Universidade do Grande Rio/AFYA, Rio de Janeiro, Brasil; ³Professora do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Universidade do Grande Rio/AFYA, Rio de Janeiro, Brasil; ⁴Professora do Laboratório de Genética, Universidade do Grande Rio/AFYA, Rio de Janeiro, Brasil; ⁵Preceptora do Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional, Universidade do Grande Rio/AFYA, Rio de Janeiro, Brasil; ⁶Pós-Doutoranda do Laboratório de Terapia e Fisiologia Celular e Molecular, Universidade do Estado do Rio de Janeiro campus Zona Oeste, Rio de Janeiro, Brasil; ⁷Professora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Faculdade de Ciências Biológicas e Saúde, Departamento de Farmácia, Rio de Janeiro. ⁸Professora do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil ⁹Professora do Laboratório de Genética Humana, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil; ¹⁰Professora no Departamento de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: aleessandra.dias@hotmail.com

Eixo: Saúde

Resumo

O crescente número de idosos na população brasileira resulta em um aumento de doenças crônicas, que são prevalentes em idosos. Os distúrbios da próstata têm uma etiologia multifatorial, com ênfase na idade e nos fatores genéticos, sendo o câncer de próstata (CaP) um dos mais comuns e o que mais acarreta óbitos de indivíduos do sexo masculino no Brasil. O gene alvo deste estudo é o *FOXM1*, envolvido em processos celulares como proliferação, angiogênese, apoptose e metástase. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar alterações no *FOXM1*, além de realizar uma caracterização do perfil clínico, bioquímico e sociodemográfico. Atualmente sabemos que variantes estão fortemente associadas ao desenvolvimento do CaP, podendo, assim, auxiliar na descoberta de novos biomarcadores para prognóstico, diagnóstico e terapêutica. Até o momento, a coorte é composta por 161 pacientes acima de 50 anos, atendidos pelas equipes de Urologia da Policlínica de Duque de Caxias Saúde e do Banco Nacional de Tumores do INCA (BNT). A amostra foi dividida em grupo CaP (n= 60) e controles (n= 101). Foram identificadas 3 variantes, sendo uma variante não sinônima (rs116425032) com potencial patogênico, baseado na classificação ACMG, tendo seu aminoácido selvagem conservado evolutivamente; além de duas variantes sinônimas (rs28990714 e rs2072360) que não apresentaram potencial patogênico e nem seus aminoácidos selvagens conservados. Esses achados mostram a importância de estudos com enfoque no papel da genética em doenças crônicas da necessidade do aumento do investimento em pesquisas abordando doenças crônicas, que são de contínuo incremento devido à maior longevidade da população, a fim de reduzir o impacto socioeconômico causado por elas no Brasil.

Palavras-chave: *FOXM1*. Variantes. Bioinformática. Sequenciamento. Patogênico.

Abstract

The growing number of elderly individuals in the Brazilian population results in an increase in chronic diseases, which are prevalent among the elderly. Prostate disorders have a multifactorial etiology, with emphasis on age and genetic factors, with prostate cancer (PCa) being one of the most common and the one that causes the highest number of deaths among males in Brazil. The target gene in this study is *FOXM1*, which is involved in cellular processes such as proliferation, angiogenesis, apoptosis, and metastasis. Thus, the present study aimed to investigate alterations in *FOXM1*, in addition to characterizing the clinical, biochemical, and sociodemographic profile. It is currently known that variants are strongly associated with the development of PCa and may, therefore,

assist in the discovery of new biomarkers for prognosis, diagnosis, and therapy. To date, the cohort comprises 161 patients over 50 years of age, treated by the Urology teams at the Duque de Caxias Health Polyclinic and the National Tumor Bank of INCA (BNT). The sample was divided into a PCa group (n = 60) and a control group (n = 101). Three variants were identified, one of which was a nonsynonymous variant (rs116425032) with pathogenic potential, based on the ACMG classification, with its wild-type amino acid being evolutionarily conserved; in addition to two synonymous variants (rs28990714 and rs2072360), which did not present pathogenic potential, nor were their wild-type amino acids conserved. These findings demonstrate the importance of studies focusing on the role of genetics in chronic diseases and the need for increased investment in research addressing chronic diseases, which continue to increase due to the greater longevity of the population, in order to reduce the socioeconomic impact caused by them in Brazil.

Keywords: *FOXM1*. Variants. Bioinformatics. Sequencing. Pathogenic.

Introdução

O câncer de próstata (CaP) é uma neoplasia crônica e multifatorial. É considerado bastante heterogêneo em relação à sua morfologia, sendo caracterizado pelo crescimento desordenado e exacerbado de células prostáticas, que podem invadir outros tecidos e órgãos.^{1,2} No Brasil, o CaP é o câncer de maior incidência (77.920 casos) e o que mais leva a óbito de indivíduos brasileiros do sexo masculino (17.258 óbitos).³ Já no mundo, atualmente, é o segundo de maior incidência (1.467.854 casos) e o quarto que mais leva esses indivíduos a óbito (397.430 óbitos).⁴

Devido à sua etiologia multifatorial, o CaP sofre a influência de fatores ambientais, como hábitos de vida e alimentares, e fatores genéticos, como alterações encontradas no gene *Forkhead Box M1* (*FOXM1*), que vem sendo associado a esta patologia.⁵⁻⁹ Esse gene atua na expressão de genes em processos biológicos como o ciclo celular, reparo de danos ao DNA, proliferação e diferenciação celular e apoptose.^{10,11} Assim, o presente estudo visou investigar variantes no gene *FOXM1* como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de CaP. Além disso, foi feita uma caracterização dos perfis clínico/sintomatológicos, bioquímico e sociodemográfico/ antropométricos dos participantes do estudo.

Materiais e métodos

Neste estudo, foram incluídos 161 indivíduos do sexo masculino acima de 50 anos acompanhados no Instituto Nacional do Câncer (INCA) e na Policlínica de Duque de Caxias - Saúde (PDC – Saúde). Esses indivíduos foram estratificados em 60 pacientes no grupo CaP que apresentaram biópsia positiva para a malignidade e 101 participantes no grupo controle que não apresentaram diagnóstico de Hiperplasia Benigna Prostática (HBP), CaP ou prostatites. O diagnóstico dos pacientes foi dado através da dosagem sérica de PSA (>4 ng/ml), exame de toque retal e da biópsia transretal da próstata, realizados pelas equipes médicas dos centros participantes. Este projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Unigranrio/Afya

(nº. 88510618.8.0000.5283) e do INCA (nº. 88510618.8.3002.5274). Todos os indivíduos que participaram do estudo foram informados quanto aos objetivos do estudo e foram incluídos apenas após consentimento escrito e verbal e assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE).

Os participantes responderam a um questionário previamente elaborado, contendo dados que foram organizados em três blocos: sociodemográfico/antropométrico, bioquímico e clínico/sintomatológico. O bloco sociodemográfico/antropométrico incluiu idade, PAS, PAD, IMC, peso, altura, etnia/cor da pele, estado civil, escolaridade, tabagismo, etilismo, atividade física, HAS, diabetes e obesidade. O bloco bioquímico compreendeu PSA total e livre, hemácias, hematócrito, hemoglobina, leucócitos, plaquetas, TGO, TGP, glicose, hemoglobina glicada, ureia, ácido úrico, creatinina, colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos. O bloco clínico/sintomatológico incluiu USG, escore IPSS, jato fraco, interrompido ou afilado, esforço miccional, polaciúria, poliúria, noctúria, disúria, urgência, dor suprapúbica, sensação de esvaziamento incompleto, gotejamento pós-miccional e alterações na USG.

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando o kit “FlexiGene DNA Kit” (Qiagen®), de acordo com o fabricante. O DNA extraído, a partir da coleta de 5 ml de sangue periférico de cada participante, foi quantificado utilizando o equipamento Denovix e armazenado, em freezer -16 °C, no Laboratório de Genética -Unigranrio/Afya. Para amplificação das regiões codificantes do gene *FOXM1*, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando o Master Mix Taq Gold (*Thermo fisher Scientific*) e a ciclagem ocorreu no termociclador *Veriti* (*Thermo fisher Scientific*). A avaliação da amplificação o produto amplificado foi realizada em eletroforese em gel de agarose 1%. Em todas as reações foi incluído um controle negativo, realizado em duplicata.

Para o sequenciamento de Sanger, foi feita a purificação do produto amplificado com a enzima *ExoSAP-IT*® (*Thermo Fisher Scientific*). Em seguida, foi utilizado o kit *BigDye Terminator* v3.1 (*Thermo Fisher Scientific*) para o processamento da técnica, utilizando o termociclador *Veriti* 9902 (*Thermo Fisher Scientific*). A leitura do sequenciamento foi realizada no sequenciador ABI Prism 3130 (*Life Technologies*) na plataforma PDTIS (Plataforma de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Os eletroferogramas gerados foram analisados por meio do programa *BioEdit Sequence Alignment Editor* versão 7.0.9.0 (*Isis Pharmaceuticals*).

Os efeitos das alterações encontradas em indivíduos do grupo CaP, no sequenciamento dos éxons do gene *FOXM1*, foram analisados através de ferramentas de predição funcional

(PolyPhen – 2, SIFT, Mutation Taster, Revel, Trap-score, Alpha missense e SpliceAI), bancos de dados (gnomAD, ABraOM e ClinVar) e plataforma de análise (VarSome).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o SPSS 25.0 (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para analisar a normalidade dos parâmetros. Os testes de Mann-Whitney (não paramétricos) e qui-quadrado foram utilizados para comparar os grupos de caso e controle. Um valor de p de 0,05 foi aplicado como ponto de corte para significância.

Resultados

Neste estudo, foram incluídas 161 amostras onde, 60 indivíduos foram diagnosticados com CaP (casos, idade: 72,50 (64,80; 77,00)) e 101 sem alterações prostáticas (controles, idade: 62,00 (57,00; 66,00)). Para as variáveis sociodemográficas, observou-se que a idade ($p < 0,001$) e a altura ($p = 0,012$) apresentaram diferença estatística entre os grupos. Nos dados bioquímicos, PSA total ($p < 0,001$) e PSA livre ($p < 0,001$) apresentaram diferença entre os grupos, com maior mediana no grupo CaP. Os valores das hemácias ($p = 0,033$), hematócrito ($p = 0,005$), hemoglobina ($p = 0,014$) também mostraram diferença significativa entre os grupos, apresentando as maiores medianas no grupo controle. Entre os parâmetros clínicos/sintomatológicos, apenas as variáveis urgência, dor suprapúbica e alteração na USG não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Todos os demais parâmetros se mostraram diferentes entre os grupos, tendo a maioria de indivíduos que não apresentaram os sintomas abordados, presentes no grupo controle. Com relação ao parâmetro Escore-IPSS, os indivíduos que se enquadraram na opção “leve” estão em maioria no grupo controle, enquanto a maior parte dos indivíduos que se enquadram na opção “grave” está no grupo CaP ($p < 0,001$).

Dentre as variantes encontradas, duas são sinônimas (rs28990714 (p.(Val555=)) e rs2072360 (p.(Val379=)) e uma não sinônima, rs116425032 (p.(Ser180Arg)). As alterações sinônimas não mostraram potencial patogênico em nossas análises. Já a alteração não sinônima encontrada, p.(Ser180Arg), apresentou potencial patogênico pelas ferramentas de predição utilizadas (SIFT, Mutation Taster, PolyPhen-2, Revel e Alpha missense), de acordo com a classificação ACMG, e teve seu aminoácido selvagem conservado em todas as espécies, por meio da análise de alinhamento entre espécies (Mutation Taster).

Discussão

O CaP é uma doença multifatorial altamente relacionada à idade, aos hábitos de vida e à predisposição genética de cada indivíduo. Sua incidência com o aumento da idade vem

aumentando fortemente, tornando evidente a necessidade de ferramentas mais eficazes de combate à doença, como a descoberta e validação de novos biomarcadores.

O gene *FOXM1* tem sido associado a diversos tipos de cânceres, como o câncer de mama (inclusive o masculino),^{12,3} câncer colorretal,¹³ câncer de ovário,¹⁴ câncer gástrico,¹⁵ carcinoma hepatocelular,¹⁶ angiossarcoma,¹⁷ melanoma,¹⁸ e câncer de pulmão.¹⁹ No CaP, ele tem sido sugerido como um possível marcador molecular de mau prognóstico, sendo sua superexpressão associada ao desenvolvimento da neoplasia.²⁰⁻²²

A variantes sinônimas (rs28990714 (p.(Val555=)) e rs2072360 (p.(Val379=)) ainda não foram associadas com nenhuma patologia na literatura, sendo este, o primeiro estudo a rastreá-las em indivíduos com CaP. De acordo com as ferramentas *in silico*, ambas foram descritas como benignas. Dentre elas, a de maior MAF (0,18) em nossa amostra foi a rs2072360, encontrada em 12 de 60 indivíduos com CaP analisados. Tais indivíduos apresentaram diferentes etnias/cor da pele, o que é esperado, levando em consideração a miscigenação da população do estudo. Dois pacientes, que apresentaram essa variante, apresentaram níveis de PSA total < 4,0 ng/mL, o que não é comum em indivíduos com tal patologia.

A variante não sinônima rs116425032 (p.(Ser180Arg)), mostrou um possível potencial patogênico em nossas análises, não tendo sido descrita na literatura, o que a torna uma boa candidata para mais estudos. Além disso, a conservação de seu aminoácido selvagem em todas as espécies comparadas, somada aos resultados *in silico*, contribui para reforçar um potencial patogênico encontrado nelas.

Os resultados obtidos nesse estudo para uma melhor compreensão dos mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento do CaP, bem como para auxiliar na validação do *FOXM1* como potencial biomarcador, favorecendo o aprimoramento de estratégias de diagnóstico precoce, visando à individualização da avaliação e do manejo dos pacientes, contribuindo para o avanço de abordagens baseadas em saúde de precisão.

Referências

1. Cambruzzi E, et al. Relação entre escore de Gleason e fatores prognósticos no adenocarcinoma acinar de próstata. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2010 Fev;46(1):61-68.
2. American Cancer Society – ACS. Cancer Facts & Figures 2016. Atlanta: American Cancer Society [Internet]. American Cancer Society; 2016 [cited Jul 2025]. Available from: <http://www.cancer.org/>.
3. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva – INCA. Próstata [Internet]. Instituto Nacional do Câncer 2022 [cited Jul 2025]. Available from: Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>

4. World Health Organization. World health statistics 2025: monitoring health for the SDGs sustainable development goals [Internet]. World Health Organization; 2022 [cited Jul 2025]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240110496>.
5. Kalin TV, et al. Increased levels of the FoxM1 transcription factor accelerate development and progression of prostate carcinomas in both TRAMP and LADY transgenic mice. *Cancer Res.* 2006;66(3):1712-1720.
6. Wang Y, et al. Increased FoxM1 expression is a target for metformin in the suppression of EMT in prostate cancer. *Int J Mol Med.* 2014;33(6):1514-1522.
7. Ketola K, et al. Targeting prostate cancer subtype 1 by forkhead box M1 pathway inhibition. *Clin Cancer Res.* 2017;23(22):6923-6933.
8. Kim MY, et al. High FOXM1 expression is a prognostic marker for poor clinical outcomes in prostate cancer. *J Cancer.* 2019;10(3):749.
9. Lee DY, Chun JN, So I, Jeon JH. Oncogenic role of FOXM1 in human prostate cancer. *Oncology Reports.* 2024 Jan;51(1):15.
10. Zhao, B. et al. Role of transcription factor FOXM1 in diabetes and its complications. *International Journal of Molecular Medicine.* 2023 Sep;52(5):101.
11. Xu N. et al. FoxM1 is associated with poor prognosis of non-small cell lung cancer patients through promoting tumor metastasis. *PloS one.* 2013 Mar;8(3):e59412.
12. Katzenellenbogen BS, Guillen VS, Katzenellenbogen JA. Targeting the oncogenic transcription factor FOXM1 to improve outcomes in all subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Research.* 2023 Jun;25(1):76.
13. Li, P. et al. Forkhead box M1 mediates metabolic reprogramming in human colorectal cancer cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2024 Aug;327(2): G284-G294.
14. Battistini, C. et al. Tumor microenvironment-induced FOXM1 regulates ovarian cancer stemness. *Cell Death & Disease.* 2024 May;15(5):370.
15. Tang, Q. et al. FOXM1 increases hTERT protein stability and indicates poor prognosis in gastric cancer. *Neoplasia.* 2023 Feb;36:100863.
16. Fan W, Ma H, Jin B. Expression of FOXM1 and PLK1 predicts prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters.* 2022 Mar;23(5):146.
17. Ito T. et al. Prognostic significance of forkhead box M1 (FOXM1) expression and antitumor effect of FOXM1 inhibition in angiosarcoma. *Journal of Cancer.* 2016 Apr;7(7):823.
18. Bai X, Li S, Luo Y. FOXM1 promote the growth and metastasis of uveal melanoma cells by regulating CDK2 expression. *International Ophthalmology.* 2024Feb;44(1)55.
19. Liang, S. et al. FOXM1 is required for small cell lung cancer tumorigenesis and associated with poor clinical prognosis. *Oncogene.* 2021 Jul;40(30):4847-4858.
20. Cai, Y. et al. Foxm1 expression in prostate epithelial cells is essential for prostate carcinogenesis. *Journal of Biological Chemistry.* 2013 Jun;288(31):22527-22541.
21. Pan, H. et al. Transcription factor FoxM1 is the downstream target of c-Myc and contributes to the development of prostate cancer. *World Journal of Surgical Oncology.* 2018 Mar;16:1-8.
22. Kim, M. Y. et al. High FOXM1 expression is a prognostic marker for poor clinical outcomes in prostate cancer. *Journal of Cancer.* 2019 Jan;10(3):749, 2019.