

ALINE CASTALDI SAMPAIO

**IMPACTO DO PERFIL ALIMENTAR E GENOTÍPICO DO
SISTEMA GLUTATIONA S - TRANSFERASE NA
SUSCEPTIBILIDADE AO CÂNCER**

CAMPINAS

2007

ALINE CASTALDI SAMPAIO

**IMPACTO DO PERFIL ALIMENTAR E GENOTÍPICO DO
SISTEMA GLUTATIONA S - TRANSFERASE NA
SUSCEPTIBILIDADE AO CÂNCER**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica*

ORIENTADOR(A): LAURA STERIAN WARD

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Sa47i Sampaio, Aline Castaldi
Impacto do perfil alimentar e genotípico do sistema glutathiona
S-transferase na susceptibilidade ao câncer/Aline Castaldi Sampaio.
Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Laura Sterian Ward
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Câncer. 2. Nutrição. 3. Gene. 4. Ovário. 5. Próstata.
6. Tireóide. I. Ward, Laura Sterian. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Título em inglês: Impact of diet and glutathione s- transferase system genotype in the
susceptibility to cancer**

Keywords: • Neoplasia

- Nutrition
- Gene
- Ovarian
- Prostate
- Thyroid

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Mestre em Clínica Médica

Banca examinadora: Profa. Dra. Laura Sterian Ward

Profa. Dra. Maria Rita Marques de Oliveira

Prof Dr José Barreto Campello Carvalheira

Data da defesa: 31-01-2007

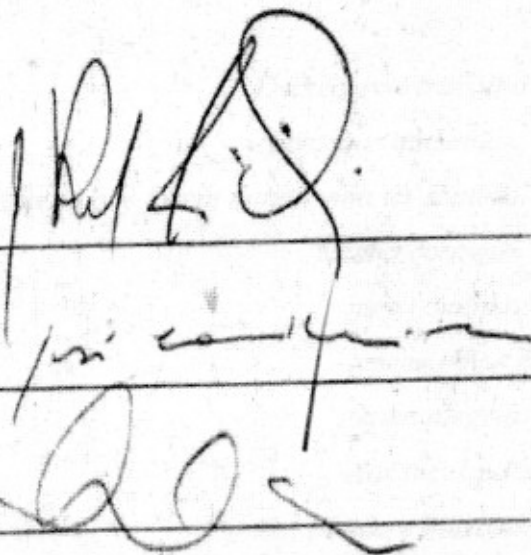
Banca examinadora da tese de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Laura Sterian Ward

Professora Doutora Maria Rita Marques de Oliveira

Professor Doutor José Barreto Campello Carvalheira

Professora Doutora Laura Sterian Ward



The image shows three handwritten signatures in black ink, each written over a horizontal line. The first signature is for Maria Rita Marques de Oliveira, the second for José Barreto Campello Carvalheira, and the third for Laura Sterian Ward. The signatures are stylized and cursive.

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 31/01/2007

00730509

*Dedico esse trabalho
às pessoas que amo...
Áqueles que fazem minha vida ter sentido!
Minha coragem,
meu caminho,
meus olhos e
minha alegria!
Aos meus pais
Maida e Marciel,
que permitiram que eu chegasse até aqui
me apoiando e
me construindo com amor.
Às minhas irmãs
Alice e Ellen
pela amizade e
carinho com que convivemos diariamente.
Ao Rodrigo
pelo amor verdadeiro que
me faz feliz todos os dias da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

À Deus por mostrar o caminho e conceder minha vitória.

À Santa Rita pela força e proteção.

À amiga Edna Goulart pelo incentivo.

À Dr^a Laura pela oportunidade e confiança.

Às amigas do Gemoca pelo carinho e aprendizado.

Ao Dr^o José Barreto pela colaboração e atenção.

À minha família pelo sonho realizado.

*Se um dia,
já homem feito e realizado,
sentires que a terra cede a teus pés,
que tuas obras se desmoronaram
que não há ninguém a tua volta para te estender a mão,
esquece a tua maturidade,
passa pela tua mocidade,
volta a tua infância e
balbucia, entre lágrimas e esperanças,
as últimas palavras que
sempre te restarão na alma:*

MEU PAI, MINHA MÃE!"

RUI BARBOSA

	<i>Pág.</i>
RESUMO	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxxi</i>
1- INTRODUÇÃO	35
1.1- Câncer e sua incidência no Brasil	37
1.2- Câncer de Tireóide	40
1.3- Câncer de Ovário	42
1.4- Câncer de Próstata	43
1.5- Agentes carcinógenos e sistema de defesa	46
1.6- Sistema Glutationa S- Transferase	48
1.7- Alimentação como fator de risco para câncer	50
1.8- Radicais livres e antioxidantes	52
2- OBJETIVOS	55
2.1- Objetivo geral	57
2.2- Objetivos específicos	57
3- MATERIAL E MÉTODOS	59
4- RESULTADOS	71
5- DISCUSSÃO	87
6- RESUMO DOS ACHADOS E CONCLUSÃO	95
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
8- ANEXOS	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Deoxyribonucleic Acid - Acido desoxiribonucléico
GST	Glutathione S-transferase
GSTT1	Sistema enzimático da família Glutathione S-transferase, sub tipo GSTT1
GSTM1	Sistema enzimático da família Glutathione S-transferase, sub tipo GSTM1
GSTP1	Sistema enzimático da família Glutathione S-transferase, sub tipo GSTP1
PCR	Reação de Polimerase em cadeia
Pb	Pares de base
OR	Odds ratio
P	Probabilidade
X²	Qui- quadrado
ID	Índice Dietético
OMS	Organização Mundial da Saúde

	<i>Pág.</i>
Tabela 1 Câncer e sua incidência no Brasil.....	39
Tabela 2 Câncer e sua incidência no Brasil.....	39
Tabela 3 Características clínicas dos indivíduos do grupo-controle.....	61
Tabela 4 Características clínicas dos indivíduos do grupo com câncer.....	62
Tabela 5 Reagentes utilizados na extração de DNA de sangue periférico.....	63
Tabela 6 Reagentes utilizados na reação de PCR- multiplex.....	65
Tabela 7 Condições utilizadas para amplificação da reação de PCR/multilex.....	65
Tabela 8 Primers utilizados para amplificação.....	66
Tabela 9 Seqüências dos primers usados nas reações.....	67
Tabela 10 Características clínicas dos 395 pacientes e 883 indivíduos-controle.....	73
Tabela 11 Características genótípicas dos 395 pacientes e 883 controles.....	74
Tabela 12 Análise de regressão logística univariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico.....	74
Tabela 13 Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico.....	75
Tabela 14 Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico em sexo masculino.....	75

Tabela 15	Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao seu perfil genotípico para sexo masculino e idade >45 anos.....	76
Tabela 16	Análise de regressão logística comparando controles e pacientes com câncer, considerando apenas polimorfismos GSTM1 e GSTT1.....	76
Tabela 17	Distribuição das características clínicas incluindo idade, sexo e etnia de indivíduos-controle e dos pacientes com câncer.....	77
Tabela 18	Distribuição das características genotípicas para GSTM1, GSTT1 e GSTP1 de indivíduos-controle e de pacientes com câncer.....	78
Tabela 19	Análise do perfil alimentar dos diferentes grupos alimentares.....	80
Tabela 20	Recomendações alimentares para prevenção de câncer.....	83
Tabela 21	Análise de atividade física de 120 indivíduos.....	85

	<i>Pág.</i>
Figura 1 Taxa de incidência de câncer de tireóide em homens.....	41
Figura 2 Taxa de incidência de câncer de tireóide em mulheres.....	42
Figura 3 Representação espacial das taxas brutas de mortalidade por 100.000 homens, entre 1995 e 1999.....	45
Figura 4 Gel de agarose a 2% de uma PCR multiplex.....	64
Figura 5 Gel de agarose 3% de GSTP1, corado com brometo de etídeo.....	68
Figura 6 Gel de agarose 2% de uma PCR-multiplex de pacientes controle.....	78
Figura 7 Gel de agarose 3% de GSTP1, corado com brometo de etídeo.....	79
Figura 8 Pirâmide dos Alimentos.....	84

LISTA DE GRÁFICOS

	<i>Pág.</i>
Gráfico 1 Hábito alimentar em relação à frequência de consumo.....	81
Gráfico 2 Hábito alimentar em relação à frequência de consumo.....	82
Gráfico 3 Frequência da atividade física na população estudada.....	85

LISTA DE ANEXOS

	<i>Pág.</i>
Anexo 1 Questionário de Consumo Alimentar.....	125
Anexo 2 Termo de consentimento regido conforme as determinações do Comitê de Ética em Pesquisa - FCM/ UNICAMP.....	127

RESUMO

Idade, sexo, perfil alimentar e perfil de genes relacionados à interação com o meio ambiente são reconhecidos fatores de predisposição ao câncer. Assim, a dieta é considerada um fator importante em 20 a 50% de todos os casos de câncer, atuando ao lado de outros fatores como idade, predisposição genética, hábitos de vida, tabagismo, sedentarismo e agressores ambientais. Os genes da família da Glutathione S- Transferase constituem um dos mais primitivos mecanismos de defesa de todos os seres vivos contra as agressões ambientais, mas pouco se sabe acerca de sua interação com outros fatores de risco. O objetivo deste estudo foi correlacionar os polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*, em pacientes com câncer de tireóide, ovário e próstata, com os hábitos alimentares da população de Campinas. A elevada miscigenação da população brasileira provê um modelo único para este tipo de estudo já que diminui o viés da etnicidade na distribuição de polimorfismos populacionais.

Foram genotipados 883 indivíduos - controle e 395 pacientes com câncer de tireóide, próstata e ovário para *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*. Os pacientes foram submetidos a um questionário de avaliação de seus hábitos alimentares, exercício físico, fumo e condições de saúde.

A avaliação do perfil alimentar mostrou que ambos os grupos, de pacientes e de controles, possuíam alimentação rica em gorduras e açúcares, com conteúdo insuficiente de fibras, frutas e vegetais. Ambos os grupos apresentavam insuficiente atividade física, mas não houve diferença entre pacientes e controles em relação ao perfil alimentar ou ao exercício físico. Já o hábito de fumar era mais freqüente entre pacientes com câncer (30.89%) do que nos controles (23.99% - χ^2 ; $p < 0.027$). Os polimorfismos de *GSTP1* foram relacionados a câncer no sexo masculino ($p < 0.001$). Homens que apresentavam o polimorfismo do gene *GSTP1* apresentavam 2.58 vezes maior risco para desenvolver neoplasias do que a população - controle (OR=2.58; 95% CI: 1.63-4.06). A análise de regressão logística multivariada demonstra que a combinação da herança de *GSTM1* e *GSTT1* nulos aumenta em 88% as chances de desenvolver câncer em homens acima de 45 anos ($p = 0.035$; OR=1.88; 95% CI:1.05-3.39).

Em conclusão, este estudo sugere que o perfil alimentar altera o risco para câncer e o perfil de GST modifica o risco individual para aparecimento do câncer e está relacionado com idade e sexo.

ABSTRACT

Background: Glutathione-S-Transferase gene family has an important role in the biotransformation and detoxification of different xenobiotics and endogenous compounds. The high admixture of the Brazilian population may represent a unique model in which the types and frequency of genetic polymorphisms of GST enzymes are less influenced by ethnicity.

Objective: In order to evaluate the influence of GST profile in different age and gender groups regarding the risk to develop câncer, we studied GSTT1, GSTM1, GSTP1 in 1278 Brazilian individuals comparing 395 individuals with confirmed diagnosis of ovarian, prostate or thyroid câncer to 883 câncer-free control subjects. We used a polymerase chain reaction-based assay for genotyping.

Results: GSTP1 polymorphism was related to câncer in males ($p < 0.001$). Indeed, men that presented a polymorphic *GSTP1* gene were 2.58 times more susceptible to develop malignancies (OR=2.58; 95% CI: 1.63-4.06). Multivariate analysis of GSTT1 and GSTM1 in the stratified groups demonstrated that GSTT1 and GSTM1 combined null inheritance in men over 45 years old increased by 88% their chance to develop a malignancy ($p = 0.035$; OR=1.88; 95% CI:1.05-3.39).

Conclusions: Our data support previous case-control studies suggesting that GST genotypes and nutrition modify individual risk of environmentally-induced cancers.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Câncer e sua incidência no Brasil

Todos os dias, milhões de células se dividem no organismo adulto normal. A cada divisão celular, estamos expostos a sofrer o efeito dos inúmeros carcinógenos ambientais. Isso ocorre porque a célula necessita romper uma série de barreiras fisiológicas para se tornar cancerígena (Ward , 2002).

Anormalidades tanto nos genes estimuladores de divisão celular, chamados de oncogenes, como nos protetores ou bloqueadores do ciclo celular, chamados de genes supressores tumorais, podem conferir a uma célula vantagens de crescimento e desenvolvimento sobre as células normais (Ward , 2002).

Cada uma das proteínas envolvidas no ciclo celular é codificada por um gene. Mutações nesses genes podem levar a desregulação do ciclo celular (Ward, 2002). No entanto, um único gene alterado geralmente não é capaz de conferir um fenótipo tumoral. São necessários vários danos genéticos que se adicionam e sobrepõem até levar a célula danificada a tornar-se independente dos controles de ciclo celular e capaz de escapar dos vários mecanismos de controle que detectam e reparam ou eliminam células danificadas, impedindo- as de passar para as células filhas esses tais danos (Ward, 2002).

Possuímos uma série de mecanismos de detecção e defesa contra estes danos a nível celular (Weinberg, 1989). Substancias nocivas são prontamente eliminadas de nosso trato gastro-intestinal ou, quando atingem a corrente sanguínea, por uma série de sistemas de defesa enzimáticos. Se, no entanto, estas substâncias chegarem a nível celular, ainda dispomos de uma extensa e ativa rede de genes é capaz de detectar mínimas anormalidades, como mutações em uma única base na seqüência de DNA, corrigi-las ou, na impossibilidade de tal correção, impedir o prosseguimento do ciclo celular (Ward, 2002). De modo geral, considera-se que as anormalidades genéticas ocorrem, ou são fixadas, durante a replicação do DNA ou a mitose (O`Neill et al, 2000).

O câncer é um dos mais antigos males da humanidade. No Brasil, os últimos dados apontam que ocorreram 472.050 casos novos de câncer em 2006¹. A distribuição dos casos novos de câncer, segundo a localização primária, é bem heterogênea entre estados e

¹www.inca.gov.br (acesso em 10/2006)

capitais do país, assim como entre o sexo masculino e feminino, o que fica bem evidenciado ao se observar a representação das diferentes taxas brutas de incidência².

As regiões Sul e Sudeste, como mostram as tabelas 1 e 2, apresentam as maiores taxas de incidência.

O aumento da incidência de câncer em certas regiões tem sido relacionado com a alimentação. As taxas de mortalidade por câncer estão diretamente relacionadas a fatores ambientais, genéticos e sociais, como os meios de assistência à saúde. (Booling, et al, 2006).

²www.inca.gov.br (acesso em 10/2006)

Tabela 1 e 2- Câncer e sua incidência no Brasil

BRASIL			
Região	Estimativa dos Casos Novos		
	Masculino	Feminino	Total
Norte	8.360	8.910	17.270
Nordeste	34.290	40.480	74.770
Centro-Oeste	14.240	13.910	28.150
Sul	53.420	48.690	102.110
Sudeste	124.260	125.490	249.750
BRASIL	234.570	237.480	472.050

Localização Primária	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sul	Sudeste
Mama Feminina	1.110	7.120	2.520	9.540	28.640
Traquéia, Brônquio e Pulmão	990	3.350	1.590	7.230	14.010
Estômago	1.260	3.680	1.310	4.670	12.280
Próstata	1.680	8.730	3.050	9.200	24.620
Colo do Útero	1.610	4.410	1.430	3.840	7.970
Cólon e Reto	520	2.450	1.320	5.920	15.150
Esôfago	220	1.230	550	3.180	5.400
Leucemias	510	1.820	630	1.850	4.740
Cavidade Oral	380	2.170	670	2.520	7.730
Pele Melanoma	140	450	240	1.790	3.140
Outras Localizações	4.230	15.560	6.520	27.520	71.020
Subtotal	12.650	50.970	19.830	77.260	194.700
Pele não Melanoma	4.620	23.800	8.320	24.850	55.050
TOTAL	17.270	74.770	28.150	102.110	249.750

1.2- Câncer de Tireóide

A tireóide é uma pequena glândula situada na garganta, abaixo da laringe e é responsável pela produção de dois hormônios: tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), que são fundamentais para a manutenção do equilíbrio metabólico do organismo³.

Nódulos de tireóide são extremamente comuns. Estima-se que 10% da população do Brasil venham a desenvolver um nódulo palpável durante a vida e vários dados indicam que este número deve ser ainda maior em nosso país onde, até poucas décadas atrás, ainda havia extensas áreas carentes de aporte adequado de iodo na alimentação (Welker e Orlov, 2003; Knobel e Medeiros - Neto, 2004; Tomimori et al, 1995; Furlanetto et al, 2000). Dois grandes estudos populacionais, o de Whickham na Inglaterra e o de Framingham nos Estados Unidos, descrevem, respectivamente, nódulos solitários palpáveis em 5,3% das mulheres e 0,8% dos homens, e 6,4% das mulheres e 1,6% dos homens (Tunbridge et al, 1977; Vander et al, 1954).

A maioria dos nódulos tiroidianos é causada por doenças benignas, como nódulos colóides, cistos e neoplasias foliculares benignas de modo que menos de 5% dos pacientes são portadores de câncer de tireóide (Tan e Gharib , 1977; Hegedus et al, 2003). A neoplasia da tireóide não responde por mais do que 1% de todas as neoplasias malignas, correspondendo a cerca de 0,5% das neoplasias descritas em homens e 1,5% daquelas que aparecem em mulheres⁴ (Jemal et al, 2004).

Por outro lado, a incidência de câncer de tireóide vem aumentando no mundo todo, de acordo com estatísticas recentes⁵. Além disso, a prevalência do câncer de tireóide apresenta grande variação geográfica. No Japão atinge 1.4/100.000 habitantes e no Kuwait relata - se que acomete 10,5% das mulheres (Burguera e Gharib, 2000; Schulumberger et al, 2000). Dados brasileiros também mostram esta grande variedade na incidência em diversos estados do país (Coeli et al, 2005). Sem dúvida, parte destes dados

³www.abcancer.org.br (acesso em 09/2006)

⁴National Câncer Data www.cdc.gov/cancer/cancerburden/; american câncer society www.cancer.org/ (acesso em 10/2006)

⁵National Câncer Data www.cdc.gov/cancer/cancerburden/; american câncer society www.cancer.org/ (acesso em 10/2006)

deve estar relacionada ao melhor acesso ao Sistema Único de Saúde e a melhores meios de diagnóstico, como no estado de São Paulo. No entanto, a grande variedade também em outros estados de similar nível socio-econômico-cultural e similar qualidade de serviços de atendimento em saúde, como mostram as figuras 1 e 2 abaixo, indica que outros fatores também devem contribuir para tal divergência na incidência.

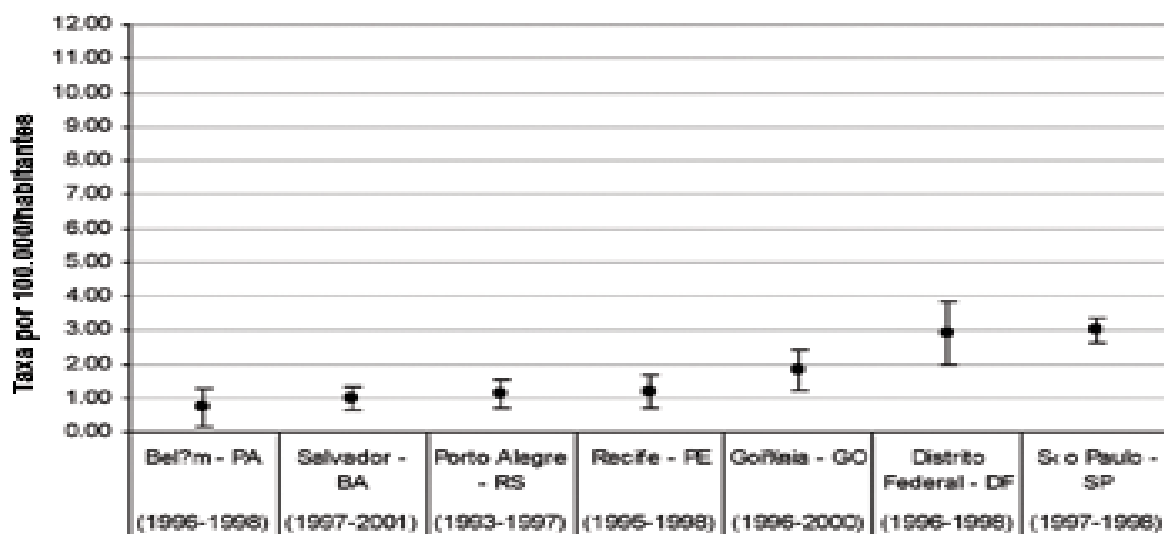


Figura 1- Taxa de incidência de câncer da glândula tireóide (IC 95%), ajustada por idade, segundo município de residência - Homens.

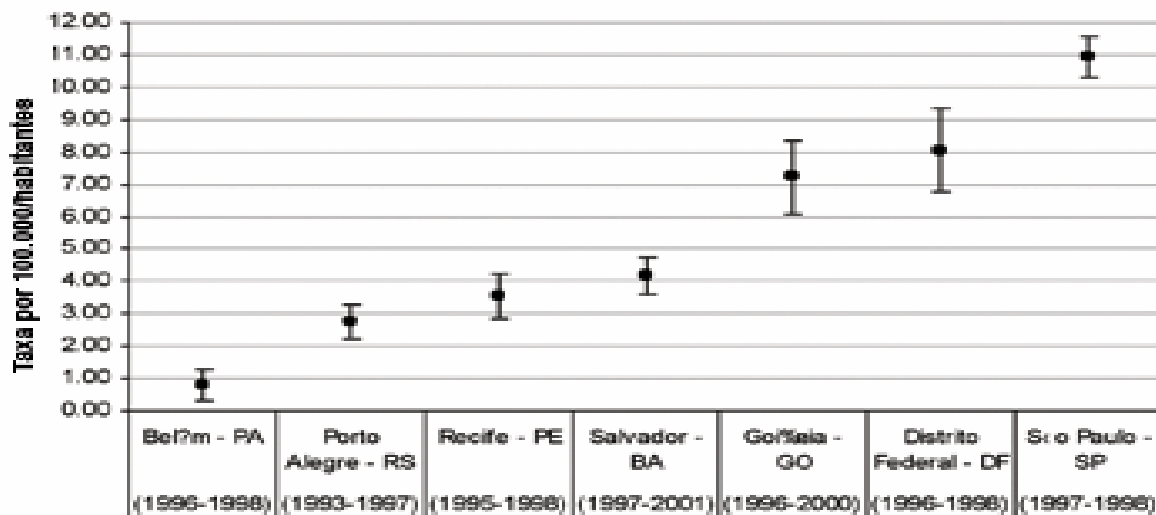


Figura 2- Taxa de incidência de câncer da glândula tireóide (IC 95%), ajustada por idade, segundo município de residência - Mulheres.

Dentre os fatores de risco para câncer de tireóide temos: radiação ionizante, predisposição familiar, ingestão deficiente de iodo, fatores hormonais e reprodutivos, fatores étnicos e geográficos, dieta e drogas⁶.

Nosso laboratório tem demonstrado que o perfil genético para uma série de enzimas de detoxificação também é fator de predisposição ao câncer diferenciado da tireóide (Morari et al, 2002; Granja et al, 2004; Granja et al, 2004; Granja et al, 2005).

1.3- Câncer de Ovário

Os ovários fazem parte do órgão reprodutor feminino. Situadas na pélvis, um do lado esquerdo e o outro do lado direito do útero e desempenham duas principais funções que são armazenar os óvulos, liberando um a cada mês, podendo iniciar um processo de fertilização e a produção de hormônios sexuais femininos, como o estrógeno e a progesterona, necessários para o ciclo menstrual⁷.

⁶National Câncer Data www.cdc.gov/cancer/cancerburden/; american cancer society (acesso em 10/2006)

⁷www.abcancer.org.br (acesso em 8/2006)

O câncer de ovário apresenta sintomas como dor, pressão abdominal e sensação de peso na pélvis, dor lombar, náusea, distensão abdominal, prisão de ventre e flatulências, podendo ocorrer também sangramento uterino⁸.

O câncer de ovário é o câncer ginecológico mais difícil de ser diagnosticado: cerca de 3/4 dos tumores malignos de ovário apresenta-se em estágio avançado no momento do diagnóstico inicial. É o câncer ginecológico de maior letalidade, embora seja menos freqüente que o câncer de colo do útero⁹.

No Brasil, corresponde a cerca de 2 a 3% dos cânceres femininos. Fatores hormonais, ambientais e genéticos estão relacionados com o seu aparecimento. Cerca de 90% dos cânceres de ovário são esporádicos, isto é, não apresentam fator de risco reconhecido. Cerca de 10% dos cânceres de ovário apresentam um componente genético ou familiar. História familiar é o fator de risco isolado mais importante.

A presença de cistos no ovário é bastante comum entre as mulheres. O perigo só existe quando eles são maiores que 10 cm e possuem áreas sólidas e líquidas. Nesse caso, quando detectado o cisto, a cirurgia é o tratamento indicado¹⁰.

Os fatores de risco mais consistentes estão relacionados com aspectos reprodutivos tais como paridade, amamentação, infertilidade, drogas para o tratamento, terapia de reposição hormonal na menopausa, idade da menarca, menopausa tardia, ligadura tubária e histerectomia (Hankinson et al, 1995).

1.4- Câncer de Próstata

A próstata faz parte do sistema reprodutivo masculino. É uma glândula que está localizada no interior da pélvis, atrás do púbis e acima do reto, circunda os primeiros 2,5 centímetros do canal que transporta a urina para o meio externo, a uretra.

⁸www.inca.gov.br (acesso em 8/2006)

⁹www.inca.gov.br (acesso em 8/2006)

¹⁰www.inca.gov.br (acesso em 11/2006)

É o órgão responsável pela produção do fluido seminal que nutre, protege e transporta os espermatozóides¹¹.

O câncer de próstata (CaP) é a primeira neoplasia, exceto pele não melanoma, mais prevalente nos homens brasileiros, segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) , que prevê a ocorrência de 47.280 casos novos a cada 100 mil homens¹². Devido à alta incidência e gravidade, o CaP é considerado um problema de saúde pública.

Considera-se o CaP um câncer de terceira idade, uma vez que cerca de $\frac{3}{4}$ dos casos em todo mundo ocorrem a partir dos 65 anos de idade¹³. Menos de 1% dos casos acomete indivíduos com idade inferior a 40 anos. Observa-se a incidência acumulada da doença em cerca de um em cada sete homens que atingem a oitava e nona décadas de vida (Parker et al, 1999; Jemal et al, 2003). Acredita-se que, a exemplo de outros tipos de tumor, fatores genéticos, hereditários, hormonais, fatores de crescimento, exposição ambiental e comportamento dietético estejam relacionados ao desenvolvimento do CaP (Brawley et al, 1996; Mettlin et al, 1997; Gronberg et al, 1997).

Muitos homens portadores de CaP mantêm-se assintomáticos e morrem por outras causas não relacionadas ao câncer propriamente dito. O número estimado de homens portadores de câncer prostático latente, isto é, um tumor que está presente na glândula, porém que não será detectado ou diagnosticado na vida do paciente, é maior que os portadores da doença clinicamente detectados (Oota et al, 1961; Franks et al, 1964; Lundberg et al, 1970; Akazaki et al, 1973; Hutchison et al, 1976; Dhom et al, 1979). Não se sabe o porquê de alguns tumores permanecerem clinicamente silenciosos enquanto outros são agressivos. Este fato tem sido atribuído a vários fatores, entre os quais a idade avançada no momento do diagnóstico e a um crescimento tumoral lento (Ruijter et al, 1999). No entanto, acredita-se que outros fatores como raça, culturas, dieta, hormônios e particularmente fatores genéticos relacionados à velocidade e diferenciação celular, possam estar envolvidos (Franks et al, 1973; Rous et al, 1976).

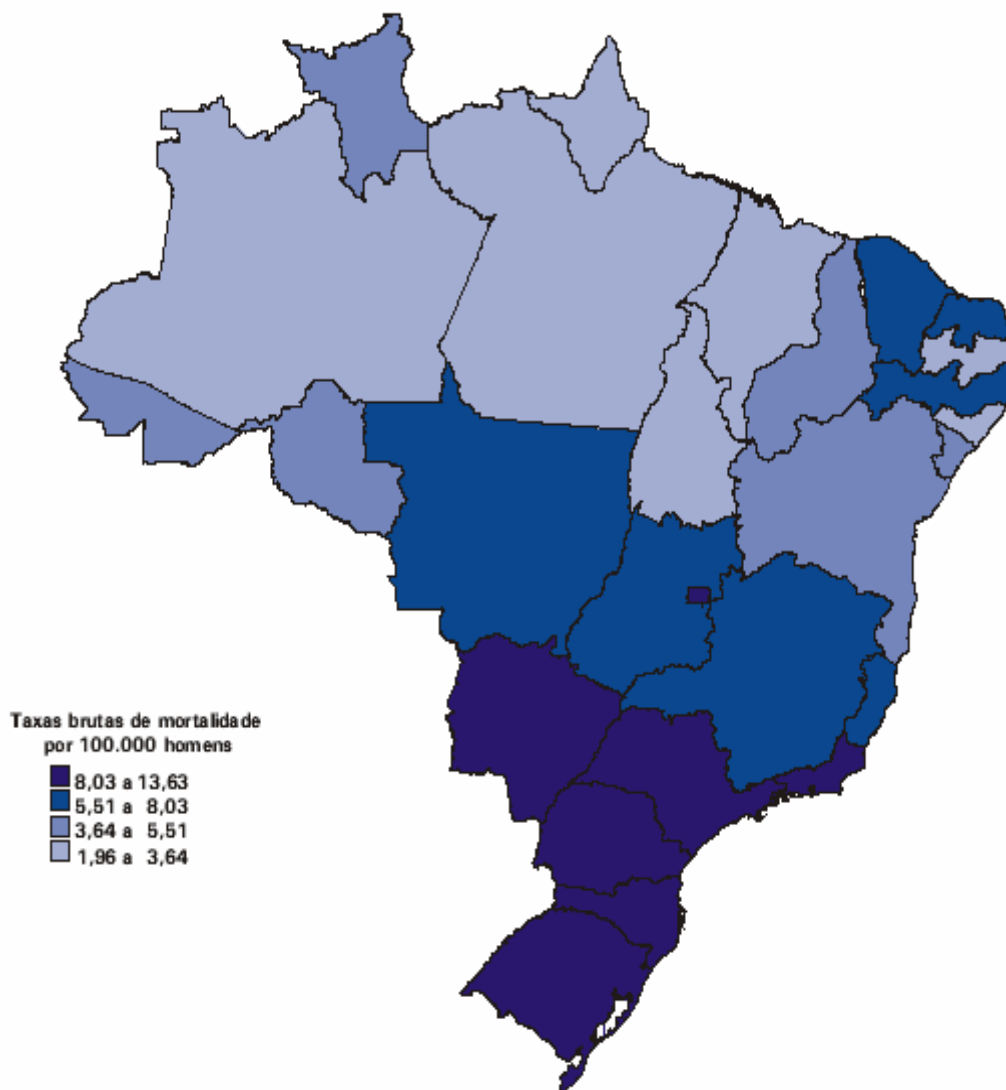
¹¹www.abcancer.org.br (acesso em 09/2006)

¹²www.inca.gov.br (acesso em 11/2006)

¹³www.inca.gov.br (acesso em 10/2006)

Existem diferenças marcantes na incidência do CaP e na sua mortalidade em diferentes regiões do Brasil e do mundo. As diferenças na mortalidade em vários países do mundo vêm sendo atribuída a fatores genéticos, ambientais e sociais (Hass et al 1997), além de fatores alimentares (Holmes et al, 2006).

A figura 3 demonstra essa diferença atribuída às regiões.



www.inca.gov.br, acesso em 11/2006

Figure 3- Representação espacial das taxas brutas de mortalidade por 100.000 homens, entre 1995 e 1999.

1.5- Agentes carcinógenos e sistema de defesa

Câncer é um processo evolutivo causado pela interação gene - meio ambiente (Vineis, 2003). Somos constantemente expostos a uma crescente lista de compostos químicos carcinogênicos, vírus transformadores de células, exposição à radiação UV e a radiação ionizante, entre outros agentes tóxicos encontrados no meio ambiente (Schottenfeld e Beebe, 2005). Além disso, compostos eletrofílicos, radicais livres e uma série de produtos do nosso próprio metabolismo podem causar danos a nossas células quando inapropriadamente metabolizados, inadequadamente eliminados ou produzidos em excesso (Vineis et al, 2004 ; Carbone et al, 2004). Estima-se que as influências ambientais contribuam com mais de 80% dos fatores envolvidos no surgimento do câncer esporádico (Palli et al, 2000). Acredita-se que seres humanos chegam a consumir 1,5 gramas de pesticidas naturais por dia, na forma de fenóis provenientes de plantas e flavonóides de alimentos, entre outras substâncias tóxicas (Ames et al, 1990; Ames e Gold, 1990; Goldman e Shields, 2003 ; Thilly et al, 2003). Pode-se incluir nas influências ambientais comportamentos sociais como tabagismo, consumo de alimentos e bebidas, poluição, agentes químicos industriais, entre outros (Palli et al, 2000).

O contato com esses agentes carcinogênicos é provavelmente responsável por uma elevada frequência de mutações no DNA (Nielsen et al, 1996; Bodiwala et al, 2003; Goldman e Shields, 2003 ; Thilly et al, 2003). Indivíduos expostos a poluentes do ar, como oficiais de polícia, motorista de ônibus, vendedores de rua e residentes em áreas urbanizadas altamente poluídas tendem a apresentar elevada frequência de modificações no DNA (Nielsen et al, 1996). Alterações cromossômicas foram encontradas em tecidos de mucosa do cólon, bexiga, nariz, pulmão e em mama destes indivíduos, sugerindo que altos níveis de anormalidades possam ser preditivos para o aparecimento de câncer (Peluso et al, 1997; Perera et al, 1995; Tan et al, 1995). Cânceres como de pulmão, mama, próstata e colo têm se tornado mais freqüente em países onde existem fatores de risco como fumo, hábitos alimentares pouco saudáveis, exposição a produtos químicos, agentes físicos carcinogênicos e no próprio meio ambiente (Tan et al, 1995).

Estudos epidemiológicos mostram que o fumo é o principal carcinógeno do mundo moderno (Trichopoulos et al, 1996). O cigarro causa câncer de pulmão, de vias aéreas superiores, de esôfago, de bexiga e de pâncreas. Provavelmente também está implicado no câncer de estômago, fígado, rim, na leucemia mielóide e no câncer de cólon (Trichopoulos et al, 1996).

Hábitos alimentares modernos, particularmente a elevada ingestão de gordura saturada e a baixa ingestão de fibras também têm sido fortemente relacionada com o câncer de cólon. A obesidade aumenta o risco de câncer de endométrio e, por razões ainda pouco claras, do câncer de cólon, rim e vesícula. O consumo de álcool predispõe ao câncer do trato digestivo, respiratório e a cirrose alcoólica podendo levar ao câncer de fígado. (Trichopoulos et al, 1996).

Várias formas de irradiação também têm sido implicadas na gênese de diversos tipos de câncer. Existem evidências de que a radiação ionizante produz câncer de tireóide e de que a radiação ultravioleta predispõe ao câncer de pele e se relaciona de forma clara com o melanoma maligno (Ward, 2002). Além dos agentes físicos e químicos, agentes biológicos têm sido reconhecidos como importantes desencadeadores do processo de tumorigênese. O papiloma vírus tem sido identificado em 18% a 95% dos carcinomas de colo uterino e embora a infecção viral sozinha não seja suficiente para iniciar o processo de transformação maligna do epitélio cervical (Kim et al, 1997; Zur et al, 2001). Numerosas evidências indicam que a presença do vírus predispõe a alterações genéticas adicionais (Kim et al, 1997; Zur et al, 2001).

Vários agentes químicos altamente suspeitos ou comprovadamente carcinogênicos para o homem, incluem produtos naturais e subprodutos industriais, aflatoxina B1, que é um contaminante comum de cereais e amendoim; micotoxina produzida pelo *Aspergillus flavus*; cloreto de vinila, um produto da indústria; benzopireno, um poluente ambiental (Drinkwater e Sugden, 1991).

A probabilidade do desenvolvimento do câncer depende da resposta natural de cada organismo as diferentes exposições a agentes agressores diversos. Os seres humanos possuem diferente susceptibilidade aos diversos agressores ambientais e também estão

relacionados a polimorfismos genéticos que ocorrem na população, em especial nos genes envolvidos na predisposição específica para câncer, ativação metabólica ou detoxificação de agentes tóxicos ambientais, controle e reparo de DNA ou dano celular (Vineis et al, 2003; Lichtenstein et al 2000; Vineis et al 2001; Autrup et al, 2000 ; Clapper et al, 2000). Assim, uma susceptibilidade maior ou menor ao câncer advém da inter-relação entre os fatores ambientais químicos, físicos e biológicos de agressão às células, chamados de fatores xenobióticos (nome atribuído a agentes químicos não- nutritivos) e fatores genéticos que cada indivíduo possui, e que são capazes de neutralizar tais carcinógenos ambientais. (Vineis et al, 2003; Vineis et al, 2001).

O metabolismo de xenobióticos ocorre graças à ação de uma série de enzimas oxidativas que podem ser divididas em fases I e II. As enzimas de fase I inativa os carcinógenos ou, eventualmente, ativam alguns compostos de maneira a torná-los mais facilmente identificáveis pelas enzimas de fase II, consideradas principalmente protetoras já que detoxificam esses agentes carcinógenos, neutralizando-os ou eliminando-os (Guengerich et al, 1997). Grande parte dos xenobióticos que entram no corpo, incluindo agentes químicos carcinógenos, são pouco solúveis em água e não podem ser diretamente eliminados pelos rins, fezes ou respiração. Dependem, portanto, da ação das enzimas de fase II (Autrup et al, 2000).

A própria longevidade deve estar relacionada com características multifatoriais fortemente dependentes da interação entre fatores genéticos e fatores ambientais. Isto está bem exemplificado pelo fato de indivíduos com menor idade geralmente serem os de menor propensão a uma série de doenças, incluindo o câncer (Gerdes et al, 2000).

1.6- Sistema Glutationa S- Transferase

Glutationa S- transferase (GSTs) é uma família de genes importantes na detoxificação de diferentes xenobióticos e compostos endógenos. Codificam enzimas de fase II envolvidas na biotransformação , o qual é caracterizada pela conjugação de compostos insolúveis em água ou de substratos lipofílicos. As GSTs catalizam reações

que eliminam uma série de pré-carcinógenos, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos presentes na fumaça do cigarro; drogas farmacológicas, incluindo paracetamol; agentes quimioterápicos e radicais livres gerados durante estress oxidativo (Strange et al, 2001; Strange et al, 1998; Thier et al, 2003). Sua ação baseia-se na conjugação com a glutathiona, além de diminuir a reatividade, aumenta a solubilidade de xenobióticos hidrofóbicos e reduz a meia-vida desses compostos no corpo. Desse modo, o conjugado é transportado para fora da célula por uma bomba de fluxo de glutathiona S- transferase ATP- dependente e, a seguir, é eliminado pela urina e bile (Hayes et al, 1995). As GSTs também tem se mostrado inibidoras na ação do mecanismo da jun kinase, que é um importante sinalizador no mecanismo de ativação de genes citoprotetores (Adler et al, 1999).

As GSTs são bem caracterizadas, por serem polimórficas e sua frequência depende da etnia (Bailey et al, 1998; Roth et al, 2000). Atualmente são conhecidas oito classes de GST: Alpha, Kappa, Mu, Omega, Pi, Sigma, Theta e Zeta (Stucker et al, 2002; Oude et al, 2003).

Polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* são bastante estudados por estarem associados com diferentes tipos de câncer, particularmente causados por cigarro (Strange e Fryer, 1999), resistência a tratamento quimioterápico e drogas (Hayes e Pulford, 1995; Lear et al, 1996; Fryer et al, 2000).

Os genes que codificam as isoenzimas do sistema glutathiona S-transferase *GSTT1* e *GSTM1* possuem uma variante alélica nula na qual o gene inteiro está ausente e, portanto, não existe produção da respectiva enzima. Acredita-se que, por não possuírem tais enzimas, indivíduos com genótipo nulo tornam-se mais susceptíveis a desenvolverem câncer. Por outro lado, estes indivíduos respondem melhor a determinadas drogas quimioterápicas (Arai et al, 1999; Hayes e Pulford, 1995; Seidegard et al, 1998; Pemple et al, 1994).

O gene *GSTM1* está localizado no cromossomo 1p13.3, e de 20 a 50% dos indivíduos não expressam a enzima devido a deleção do gene em homozigose ou alelo nulo (Bailey et al, 1998; Roth et al, 2000). *GSTM1* está envolvida na detoxificação de

metabólitos químicos reativos derivados do cigarro, como benzopireno e outros hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e aflatoxina B1 (presente no amendoim) (Ketterer et al, 1992; Hayes e Pulford, 1995; Raney et al, 1992; Satrange e Fryer, 1999).

O gene GSTT1 está localizado no cromossomo 22p11.2 e 20 a 60% dos indivíduos não expressam a enzima correspondente (Pemple et al, 1994; Rebbeck et al, 1997). GSTT1 metaboliza várias substâncias com potencial carcinogênico, incluindo os mono-halometanos, os quais são amplamente utilizados como agentes metilantes, pesticidas, solventes industriais e grande número de agentes químicos presentes no cigarro (Guengerich et al, 1995).

O gene GSTP1 está sempre expresso. No entanto, ele possui um polimorfismo envolvendo a troca de uma isoleucina por uma valina, resultando em uma substituição de aminoácidos Ile/Val no exon 5 (I105V) que produz três variantes alélicas, as variantes em homozigose Ile/Ile e Val/Val e a variante em heterozigose Ile/Val. As variantes Ile/Val e Val/Val possuem estabilidade e atividade específica menores do que as enzimas que contêm a isoforma Ile/Ile (Ali - Osmam et al, 1997). Assim, essa variante enzimática possui menor capacidade de detoxificação dos cacinógenos quando comparados com a enzima codificada pelo gene de tipo selvagem, denominado Ile/Ile (Johansson et al, 1998; Hu et al, 1997). Ao contrário, a hiperexpressão de GSTP1 causa resistência a diversas drogas anti-neoplásicas e a presença do polimorfismo do “locus” desse gene pode diminuir a eficácia terapêutica de quimioterápicos como o clorambucil e o ciclofosfamida (Henderson et al, 1988).

A expressão do gene GSTP1 também vem sendo associada ao desenvolvimento de uma série extensa de neoplasias, particularmente relacionadas ao tabagismo, incluindo tumores de cabeça e pescoço, mama, pulmão e próstata (Stucker et al, 2002; Oude et al, 2003).

1.7- Alimentação como fator de risco para câncer

Desde 1970, pesquisadores de todo mundo vêm mostrando que pessoas que tem uma dieta alimentar que inclui muitas frutas e vegetais apresentam menor probabilidade de adquirir alguns tipos de câncer (Tijhuis e Visker et al, 2006).

A dieta é considerada um fator importante em 20 a 50% de todos os casos de câncer, atuando ao lado de outros aspectos como idade, predisposição genética, hábitos de vida, tabagismo, sedentarismo e fatores ambientais. A obesidade contribui para o aumento do risco de câncer de modo geral em 14 a 20%, incluindo câncer da tireóide, próstata, ovário, entre outros. (Kushi et al, 2006).

Nos mecanismos envolvidos temos: efeitos da gordura e do açúcar no metabolismo, funções imunes, níveis hormonais (insulina e estradiol) e fatores que regulam o ciclo celular (Kushi et al, 2006). Estima-se que seria possível evitar 35% de câncer apenas alterando a dieta (Eichholzer et al, 2000). Assim, o risco estaria reduzido em 2\3 com a modificação a dieta (Booling et al, 2006).

Substâncias tóxicas podem ocorrer naturalmente nos alimentos ou serem introduzidas durante o processamento para o consumo, como aminas aromáticas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos que se formam durante a preparação dos alimentos e que induzem danos no DNA das células (Waters et al, 1996). Essas substâncias são formadas durante o cozimento e fritura de carnes e podem induzir experimentalmente tumores de próstata, pulmão, coloretal e ovário (Cross Aj et al, 2005). Ao contrário, antioxidantes contidos na dieta aumentam a proteção do DNA e aumentam a eliminação de radicais livres por várias reações metabólicas (Pool-Zobel et al, 1997).

Vegetais, frutas e cereais contêm uma grande variedade de substâncias quimiopreventivas, muitas das quais ainda pouco estudadas (Waladkhani e Clemens, 1998; Eichholzer et al, 2000). Vários alimentos, principalmente as frutas, verduras e legumes, contêm agentes antioxidantes tais como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonóides, carotenóides, curcumina e outros que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (Stavric 1994; Fotsis et al., 1997; Pool-Zobel et al, 1997).

A avaliação de consumo de alimentos visa medir as condições nutricionais de uma população, suas condições e tendências (Vasconcellos e Anjos 2001; Brussaard et al, 2002) identificando grupos com risco nutricional (Haveman-nies et al, 2001; Dixon et al, 2004). Foi desenvolvido em 1994 por Kant, com o objetivo de criar um

instrumento de medida da qualidade global da dieta, que refletisse um gradiente de risco para muitas doenças crônicas relacionadas com a alimentação (Cox et al, 1997; Patterson et al, 1994). Para uma avaliação global, o Índice Dietético (ID) surge como uma alternativa, apresentando variáveis comuns, como consumo de gorduras, frutas, verduras, legumes e cereais (Kant et al, 1996), sendo considerado uma ferramenta que proporciona melhor avaliação da dieta e maior aplicabilidade em estudos epidemiológicos (Drewnowski et al, 1996; Kant et al, 1996). No entanto, devido à relação entre a dieta e prevenção de doenças, tornou-se importante a avaliação também da qualidade da dieta. (Drewnowski et al, 1996;.)

A avaliação do consumo alimentar tem sido um aspecto cada vez mais referido quando se trata de estimar a associação entre os fatores da dieta e o câncer, uma vez que se acredita que o período de indução dessa enfermidade pode ocorrer muitos anos antes de sua manifestação clínica. (Naves, 2006)

Muitas investigações sobre o papel da dieta no desenvolvimento de doenças crônicas, especialmente no caso de alguns tipos de câncer, utilizam o desenho de estudo em que a dieta é geralmente avaliada a partir das informações referentes ao consumo alimentar. O QFCA (Questionário de Frequência do Consumo Alimentar), que pode ser quantitativo, semi-quantitativo ou apenas qualitativo, consiste numa lista definida de itens alimentares para os quais os respondentes devem indicar a frequência do consumo num período de tempo determinado. A frequência do consumo costuma ser relatada, por exemplo, através de categorias que objetivam caracterizar um gradiente de ingestão como, por exemplo, mais de três vezes ao dia, 2-3 vezes ao dia, 1 vez por dia, 5-6 vezes por semana, 2-4 vezes por semana, 1 vez por semana, 1-3 vezes por mês, raramente ou nunca (Koifman et al, 1999).

Nesse trabalho foi utilizada a caracterização de: D- Consumo diário; E- Consumo eventual e N- Nunca ou raramente consumidos.

1.8- Radicais livres e antioxidantes

Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou nas membranas celulares e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação (Anderson et al, 1996; Yu e Anderson, 1997).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Cerutti, 1991, Ceruti, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (Sies et al, 1993).

A ocorrência de um estresse oxidativo moderado é acompanhada freqüentemente do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode superar tal aumento causando danos e morte celular (Anderson, 1996). A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (Sies et al, 1993). Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos:

- O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre (Barnett e King, 1995).
- Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres (Barnett e King, 1995).
- Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (Barnett e King, 1995).
- Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (Barnett e King, 1995).

Os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Entretanto, nos alimentos são encontradas grandes variedades de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (Jacob et al, 1995; Niki et al, 1995; Hercberg et al., 1998). O efeito cooperativo entre as vitaminas C e E é freqüentemente mencionado na literatura, mostrando que a interação dessas vitaminas é efetiva na inibição da peroxidação dos lipídeos da membrana e na proteção do DNA (Gey,1998).

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Analisar fatores de risco a que a população de Campinas está sujeita na susceptibilidade ao desenvolvimento do câncer.

2.2- Objetivos específicos

- 2.2.1- Correlacionar os polimorfismos dos genes GSTM1, GSTT1 e GSTP1 com o risco para ocorrência de câncer de tireóide, ovário e próstata.
- 2.2.2- Analisar o perfil alimentar da população da região de Campinas, definindo se este constitui fator de risco para desenvolvimento de câncer.
- 2.2.3- Correlacionar os perfis genotípicos dos genes GSTM1, GSTT1 e GSTP1 com outros fatores conhecidos de risco para câncer tais como etnia, sexo, idade, tabagismo e alimentação.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Material

Neste estudo de tipo caso-controle foram analisadas 883 amostras de indivíduos normais e 395 de pacientes com câncer, incluindo tumores malignos de tireóide, próstata e ovário.

Todos os indivíduos-controle e pacientes submetidos a essa pesquisa foram devidamente informados dos objetivos da presente investigação e assinaram o Termo de Consentimento Informado (anexo), conforme as determinações do Comitê de Ética em Pesquisa – FCM/ UNICAMP, durante o período de 1999 a 2006. Todos os participantes do estudo foram entrevistados para obtenção de características que incluíam etnia, sexo, idade e hábito de fumar. A tabela 3 resume as características destes 883 indivíduos - controle.

Tabela 3- Características clínicas dos indivíduos do grupo-controle

Sexo		Etnia		Fumo	
M	F	B	NB	S	N
42,1 %	57,8 %	85.2 %	14.7%	76 %	23.9 %

Dados de pacientes com câncer, tais como idade, sexo, etnia, diagnóstico, hábito de fumar, além de dados clínicos específicos, incluindo resultados anátomo-patológicos de biópsias e exames laboratoriais foram coletados, seguindo conforme protocolo - padrão do nosso Laboratório de Genética Molecular do Câncer para estudo de pacientes no Hospital das Clínicas da FCM-UNICAMP para câncer de ovário, próstata e tireóide, conforme previamente descrito em diversas publicações (Morari et al, 2002; Granja et al, 2004; Granja et al, 2004; Morari et al, 2006). Todos os pacientes participantes da pesquisa tiveram uma mostra de sangue periférico coletada durante uma visita de rotina para seguimento no Hospital das Clínicas da FCM-UNICAMP.

Para a coleta dos indivíduos-controle, foram recrutados doadores de sangue saudáveis e voluntários entre funcionários e estudantes que têm contato com nosso Laboratório de Genética Molecular do Câncer.

Foram coletados 3 ml de sangue periférico em tubo contendo EDTA que foram estocados em geladeira a 4° C até o seu processamento, detalhado a seguir.

Critérios de inclusão e exclusão

Foram recrutados indivíduos com idade entre 16 a 81 anos, com moradia fixa na região de Campinas e sem história sugestiva de câncer familiar.

Para que os pacientes fossem incluídos no estudo era necessário que apresentassem diagnóstico estabelecido de câncer de tireóide, próstata ou ovário. Pacientes portadores de bócio benigno, tumores de ovário benignos e de hiperplasia prostática benigna foram excluídos desse estudo. Mulheres grávidas e crianças que não apresentassem consentimento formal e firmado dos pais para sua participação também foram excluídos.

A tabela 4 resume as características dos 395 pacientes estudados.

Tabela 4- Características clínicas dos indivíduos do grupo com câncer.

Câncer	Sexo (n)		Etnia (n)		Fumo (n)	
	M	F	B	NB	S	N
Tireóide	25	149	144	30	58	99
Próstata	153		125	28	43	69
Ovário		68	65	3	6	62

Foram incluídos 174 casos de portadores de câncer da tireóide, 153 casos de portadores de câncer da próstata e 68 casos de portadores de câncer de ovário.

3.2- Métodos

Extração de DNA de leucócitos

Lise das hemácias foi feita a partir de sangue periférico coletado em tubos contendo EDTA usando tampão de lise de hemácias (descrição na tabela 4). Em seguida foi feita lise dos leucócitos em tampão com incubação a 37° C durante 30 minutos.

Tabela 5- Reagentes utilizados na extração de DNA de sangue periférico

Reagentes utilizados na extração de DNA de leucócitos	Concentração
Tampão de lise de hemácias	NaCL (10mM), MgCL ₂ (5mmM), Tris-HCL(10 mM, pH 7,5)
Tampão de lise de leucócitos	NaCL (5N), EDTA (0,2 M), Tris-HCL (10 mM, pH 7,5), Uréia
SDS	20%
Fenol Saturado com Tris	Fenol; Tris (10mM, pH 8)
Clorofórmio-álcool-isoamílico	24:1
Acetato de sódio	3M
Etanol	100%
Etanol	70%
TE	Tris (10mM); EDTA (1mM)

Os produtos de extração obtidos por ambos os procedimentos descritos foram avaliados e quantificados com o auxílio de espectrofotometria e em gel de agarose a 0.8% como mostram as figuras 4 e 5.

Análise dos genes GSTM1, GSTT1 E β -GLOBINA

Os genes GSTM1 e GSTT1 foram amplificados por reação em cadeia de polimerase (PCR) utilizando-se um termociclador da marca Perkin Elmer. Uma PCR-multiplex foi otimizada para detectar a presença ou ausência dos genes GSTM1

e GSTT1 incluindo o gene β globina como controle da integridade do DNA de nossas amostras. Os reagentes utilizados estão descritos na Tabela 6 e as condições de PCR estão resumidas na Tabela 7.

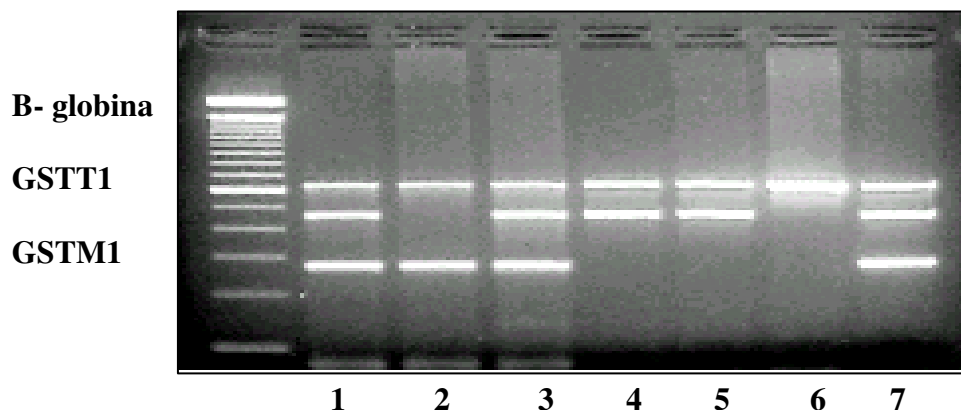


Figura 4- Neste gel de agarose a 2% mostramos o resultado de uma PCR multiplex, na qual utilizamos três pares de primers. Na primeira banda observamos o gene B globina que foi utilizado como controle, abaixo o gene GSTT1 e o gene GSTM1. Os pacientes 1 e 7 possuem os genes GSTT1 e GSTM1. Já o paciente 2 não possui o gene GSTT1, os pacientes 4 e 5 não possuem o gene GSTM1 e o paciente 6 não possui nem o gene GSTT1 e nem o gene GSTM1. Temos certeza disto, graças à amplificação do gene B globina como controle de nossas amostras.

Tabela 6- Reagentes utilizados na reação de PCR- multiplex

Reagentes utilizados na reação de PCR- multiplex	Concentração
10 x PCR buffer	Tris - HCL (10 mM ph 8,4); KCL (25 mM)
MgCL ₂	1,5 Mm
DATP, DCTP, DGTP, DTTP	0,1 mM
Primer GSTM1 (sense e anti- sense)	120 ng
Primer GSTT1 (sense e antisense)	150 ng
Primer B- Globina (sense e anti sense)	95 ng
Taq DNA polynerase GIBCO BRL	2 U
DNA genômico	500 ng

Tabela 7- Condições utilizadas para amplificação da reação de PCR / multilex

Temperatura	Tempo	Nº de Ciclos
94° C	2 minutos	1
95° C	1 minuto	
62° C	1 minuto	35
72° C	1 minuto	
72° C	7 minutos	1

Os primers utilizados para a amplificação e os respectivos tamanhos de segmento amplificados estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8- Primers utilizados para amplificação

Primers	Seqüências	Tamanho (pb)
GSTM1	S 5' CTGCCCTACTTGATTGATGGG 3'	273
	as 5' CTGGATTGTAGCAGATCATGC 3'	
GSTT1	S 5' TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC 3'	480
	as 5' TCACCGGATCATGGCCAGCA 3'	
B GLOBINA	S 5' ATACAATGTATCATGCCTCTTTGCACC 3'	630
	as 5' GTATTTTCGCAAGGTTTGAAGTAGCTC 3'	

s- fita sense; as- fita anti sense

Eletoforese

Os produtos obtidos na reação de amplificação por PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%. Alíquotas de 8 ul do produto das reações de PCR foram misturadas com 2 ul de azul de bromofenol (azul de bromofenol 0,25%; sacarose 40%) e aplicadas no gel de agarose 2%. Após a migração, o gel foi corado com brometo de etídeo (8 mg/ml) e a visualização foi feita sob iluminação ultra-violeta. Foi utilizado um marcador de peso molecular (Ladder 100 pb), onde o gene B-globina amplifica em 630 pb o gene GSTT1 amplifica a 480 pb e o gene GSTM1 amplifica a 273 pb. Foram considerados genótipos nulos para GSTM1 os casos em que as reações de PCR obtiveram amplificação visualizada como bandas de 630 e de 480 pb, na ausência do produto de 273 pb. Foram considerados genótipos nulos para GSTT1 as reações que exibiram as bandas de 630 e 273 pb e ausência do produto de 480 pb. A ausência de bandas em GSTT1 e GSTM1 quando o gene B globina está claramente presente identifica os genótipos nulos para esses dois alelos.

Visualizamos os resultados da amplificação, excitando o corante incorporado ao DNA (brometo de etídeo) com luz ultravioleta com o sistema Kodak de visualização e fotografia.

Análise do polimorfismo de GSTP1

As mesmas amostras foram analisadas para os polimorfismos do gene GSTP1 empregando os primers previamente descritos por Granja et al, 2004 e descritos na tabela 9.

Tabela 9- Seqüências dos primers usados nas reações

Primer	Seqüência
GSTP1	s 5' TCTATGGGAAGGACCAGCAGG 3 as 5' GCCCAACCTGGTGCAGATG 3

Nas reações de PCR, foram usados 100 ng de DNA genômico, 50nM de cada primer, 100 mM Tris- HCL (ph8,0), 100uM de dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 20, mM MgCL₂ e 0,5 U Taq DNA polimerase para um volume final de 25 ul. A amplificação foi feita em um termociclador MJ PTC – 200 programado para realizar a desnaturação a 92° C por dois minutos, seguida por 35 ciclos. A temperatura de anelamento utilizada foi 63° C, por 50 segundos com extensão de 72°C por um minuto e uma extensão final de 72° por sete minutos.

O volume utilizado na PCR foi de 25 µl, contendo 100 ng de DNA, 50 nM de cada primer, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 uM de cada nucleotídeo trifosfato, 2,0 mM de MgCl₂ e 0.5 Os resultados finais foram analisados posteriormente a partir da visualização sob luz ultra-violeta da amplificação dos genes em géis de agarose 2%, corados com brometo de etídeo (8mg/ml). Após confirmar a amplificação do gene GSTP1, as amostras foram submetidas ao processo de restrição enzimática como exemplificado na figura 5.

O volume utilizado na restrição enzimática foi de 12,75 µl, contendo 10 µl de PCR da amostra, 0,75 µl de Enzima *Alw261* (BsmAI) e 2 µl de tampão correspondente. O processo de desnaturação ocorreu a 94⁰C durante 16 horas e o sistema utilizado foi o MJ PTC-200 PCR. Os resultados finais foram analisados a partir da visualização da restrição enzimática, sob luz ultravioleta, em géis de agarose 3%, corados com brometo de etídeo (8mg/ml). Um total de seis amostras foi seqüenciado diretamente em seqüenciador automático (ABI 377 Prism DNA Sequencer - Perkin Elmer) para confirmação dos resultados previstos na restrição enzimática.

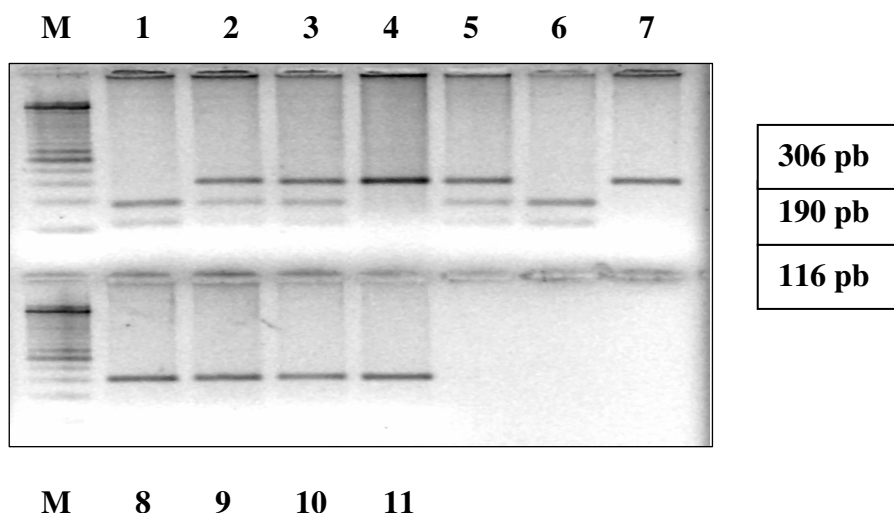


Figura 5- Gel de agarose 3% de GSTP1, corado com brometo de etídeo (8mg/ml). Resultado de uma restrição enzimática de paciente com câncer de próstata. As amostras 4, 7, 8, 9, 10 e 11 possuem genótipo normal; amostras 1 e 6 possuem genótipo homozigoto e amostras 2, 3 e 5 possuem genótipo heterozigoto para o gene GSTP1.

Perfil alimentar

Um questionário alimentar para analisar a qualidade dos grupos alimentares consumidos baseado no Índice Dietético (ID) (anexo 1) foi proposto a 120 indivíduos, sendo 60 pacientes com câncer e 60 indivíduos - controle (38 homens e 82 mulheres, de 18 a 62 anos de idade, com média de idade de 40 anos) O questionário analisa atividade física e a prevalência de consumo dos diversos grupos de alimentos, classificada como:

D- Consumo diário E- Consumo eventual N- Nunca ou raramente consumidos
--

Todos os pacientes foram entrevistados pela mesma pesquisadora e autora desta tese.

Metodologia Estatística

A análise foi conduzida usando software de análise estatística (Statistical Analysis System, version 8.1, 1999–2000; SAS Institute, Inc., Cary, NC). Para descrever o perfil da amostra, segundo as variáveis em estudo, foram feitas tabelas de frequência das variáveis categóricas como sexo, cor, fumo e genótipos e estatísticas descritivas (com medidas de posição e dispersão - média, desvio-padrão, valores mínimos, máximo e mediana) das variáveis contínuas, como idade. Para descrever o perfil alimentar foram feitas tabelas de frequência e análises descritivas.

Para analisar a associação entre duas variáveis categóricas foram utilizados os testes Qui-Quadrado ou exato de Fisher (para valores esperados menores que cinco). Para comparar a idade entre os dois grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para observar a frequência genotípica comparamos com outro cálculo, usando Hardy-Weinberg.

Para analisar a influência conjunta dos genótipos e demais variáveis de interesse no câncer foi utilizada a análise de regressão logística, modelos univariado e múltiplo com critério *Stepwise* de seleção de variáveis.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0.05$).

4- RESULTADOS

4.1- Comparação entre grupos - controle e câncer

As características clínicas gerais e genéticas entre os grupos câncer e controles estão apresentadas nas tabelas 9 e 10. As diferenças de sexo entre indivíduos controles e pacientes com câncer demonstram (372 masculinos e 511 femininos *versus* 178 masculinos e 207 femininos), a etnia (753 brancos e 130 não brancos *versus* 340 brancos e 55 não brancos) e a idade dos pacientes com câncer (55.25 ± 17.95 anos) e dos controles (48.94 ± 14.71 anos) (MW; $p < 0.001$). A distribuição da idade foi de: abaixo de 20 anos, entre 20 e 45 anos e acima de 45 anos. Os indivíduos - controles agregavam idade entre 20 e 45 (<20 anos: N=3; 20-45 anos: N=323; >45 anos: N=557), enquanto que, em pacientes com câncer, a frequência da idade foi acima de 45 anos (<20 anos: N=11; 20-45 anos: N=108; >45 anos: N=275 - X^2 ; $p < 0.001$). O hábito de fumar entre os indivíduos controle e os pacientes com câncer (23.99% fumantes e 76.01% não fumantes *versus* 30.89% fumantes e 69.11% não fumantes - X^2 ; $p < 0.027$). Entretanto, quando estratificados, a história de fumo, não houve diferença nas distribuições genotípicas entre os genes GSTT1, GSTM1 e GSTP1, idade e sexo.

As características clínicas e genotípicas dos pacientes estudados foram agrupadas nas tabelas 10 e 11.

Tabela 10- Características clínicas dos 395 pacientes e 883 indivíduos-controle

Variáveis		Controle (%)		Câncer (%)	
Sexo					
M	F	42.1	57.8	45.6	54.9
Idade					
<45	>45	36.6	63.8	30.1	69.8
Etnia					
B	NB	85.2	14.7	85.8	14.1
Tabag.					
S	N	23.9	76.0	30.8	69.1

Tabela 11- Características genótípicas dos 395 pacientes e 883 indivíduos-controle. GSTM1 presente (+) ou ausente (-); GSTT1 presente (+) ou ausente (-); GSTP1 normal (nor) ou alterado (alt)

Variáveis		Controle (%)		Câncer (%)	
-	GSTM1	43.7	56.2	47.8	52.1
	+				
-	GSTT1	19.4	86.5	24.5	75.4
	+				
nor	GSTP1	58.6	41.3	54.0	45.9
alt					

Análises de regressão uni e multivariada demonstram que indivíduos do sexo masculino possuem 3.3 vezes mais risco de desenvolverem câncer do que indivíduos do sexo feminino, enquanto que indivíduos com idade acima de 45 anos possuem 8.9 vezes mais risco de câncer do que indivíduos abaixo desta faixa etária, como mostram as tabelas 12 e 13.

Tabela 12- Análise de regressão logística univariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico.

Variável	Níveis de Comparação*	p-valor	OR**	IC 95%
Sexo	Masculino / Feminino	0.328	1.13	0.89 – 1.43
Idade	>45 anos / ≤45 anos	0.020	1.35	1.05 – 1.75
Etnia	Não-Branco / Branco	0.833	0.95	0.62 – 1.47
Tabagismo	Sim / Não	0.028	1.42	1.04 – 1.93
GSTM1	Negativo / Positivo	0.173	1.18	0.93 – 1.50
GSTT1	Negativo / Positivo	0.044	1.35	1.01 – 1.80
GSTP1	Alterado / Normal	0.170	1.21	0.92 – 1.58

*Nível de Comparação / Nível de Referência; Controle (n=883); Câncer (n=395); ** OR=Razão de Risco para Câncer; IC95%=Intervalo de 95% de Confiança para OR.

Tabela 13- Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico.

Variável Seleccionada	Níveis de Comparação*	p-valor	OR**	IC 95%
Sexo	Masculino / Feminino	<0.001	3.28	2.23 – 4.82
Idade	>45 anos / ≤45 anos	<0.001	8.89	5.41 – 14.60

* Nível de Comparação / Nível de Referência; Controle (n=542); Câncer (n=171). Critério Stepwise de seleção de variáveis.

O perfil genotípico pelas análises de regressão uni e multivariadas, comparando indivíduos controle e pacientes com câncer do sexo masculino mostram que existe uma relação significativa entre alterações no gene GSTP1 e cânceres nos pacientes do sexo masculino: pacientes com GSTP1 alterado com quase 2.6 vezes mais risco de apresentar câncer em relação aos com GSTP1 normal, como demonstra a tabela 14. Esta relação se deve aos indivíduos com idade acima de 45 anos, como demonstra a tabela 15.

Tabela 14- Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao perfil genotípico de indivíduos de sexo masculino.

Variáveis	Níveis de Comparação*	p-valor	OR**	IC 95%
GSTM1	Positivo / Negativo	0.680	1.10	0.71 – 1.70
GSTT1	Positivo / Negativo	0.072	1.56	0.96 – 2.52
GSTP1	Alterado / Normal	<0.001	2.58	1.63 – 4.06

*Nível de Comparação / Nível de Referência; Controle (n=174); Câncer (n=172). Modelo saturado, sem critério de seleção.

Tabela 15- Análise de regressão logística multivariada comparando controles e pacientes com câncer em relação ao seu perfil genotípico para sexo masculino e idade >45 anos.

Variáveis	Níveis de Comparação*	p-valor	OR	IC 95%
GSTM1	Positivo / Negativo	0.189	1.48	0.82 – 2.67
GSTT1	Positivo / Negativo	0.252	1.45	0.77 – 2.73
GSTP1	Alterado / Normal	0.052	1.81	0.99 – 3.28

* Nível de Comparação / Nível de Referência; Controle (n=67); Câncer (n=155)

Também encontramos associação entre a ausência combinada dos genótipos negativos de GSTM1 e GSTT1 para os indivíduos do sexo masculino e idade >45 anos. Indivíduos com genes GSTM1 e GSTT1 ambos ausentes apresentam risco 88% maior de câncer, como mostramos na tabela 16.

Tabela 16- Análise de regressão logística comparando controles e pacientes com câncer, considerando apenas polimorfismos GSTM1 e GSTT1.

Estrato	Variável	p-valor	OR	IC 95%
Amostra Total	GSTM1 + GSTT1	0.402	1.19	0.79 – 1.78
Sexo Feminino	GSTM1 + GSTT1	0.620	0.84	0.43 – 1.65
Sexo Masculino	GSTM1 + GSTT1	0.208	1.40	0.83 – 2.35
Sexo Feminino Idade≤45	GSTM1 + GSTT1	0.173	2.03	0.73 – 5.64
Sexo Feminino Idade>45	GSTM1 + GSTT1	0.129	0.47	0.18 – 1.25
Sexo Masculino Idade≤45	GSTM1 + GSTT1	0.302	0.33	0.04 – 2.69
Sexo Masculino Idade>45	GSTM1 + GSTT1	0.035	1.88	1.05 – 3.39

* Nível de Comparação / Nível de Referência; Controle (n=883); Câncer (n=364).

4.2- Resultados Genotípicos - grupos separados

Analizamos a seguir, em separado, as relações entre genótipos e características clínicas para cada tipo de tumor estudado, comparando grupo-controle e câncer de tireóide (n=174), ovário (n=68) e próstata (n=153). A distribuição das características clínicas dos pacientes que integram estes grupos de tumores estão demonstradas na tabela 17. As características genotípicas estão demonstradas na tabela 18 e 19.

A amplificação dos resultados genotípicos estão apresentados nas figuras 6 e 7.

Tabela 17- Distribuição das características clínicas incluindo idade (<45; >45 anos), sexo (F: feminino; M: masculino), etnia (B: branco, NB; Não branco) de indivíduos controle e dos pacientes portadores de câncer da tireóide, ovário e próstata.

		Controles	Ovário	Próstata	Tireóide
Idade (%)	<45	36.58	27.53	0.65	55.26
	>45	63.08	72.46	99.35	44.25
Sexo (%)	F	57.87	100	-	85.61
	M	42.13	-	100	14.39
Etnia (%)	B	85.28	95.65	81.62	82.76
	NB	14.72	4.35	18.38	17.24

Tabela 18- Distribuição das características genótípicas para GSTM1, GSTT1 e GSTP1 de indivíduos-controle e de pacientes portadores de câncer da tireóide, ovário e próstata.

Genótipos		Controles	Ovário	Próstata	Tireóide
GSTM1	Positivo (%)	56.29	44.1	49.0	58.82
	Negativo (%)	43.71	55.8	50.9	41.1
GSTT1	Positivo (%)	80.52	88.23	62.5	82.8
	Negativo (%)	19.48	11.76	37.5	17.12
GSTP1	Normal (%)	58.67	48.52	51.3	59.7
	Alterado (%)	41.33	51.47	48.6	40.42

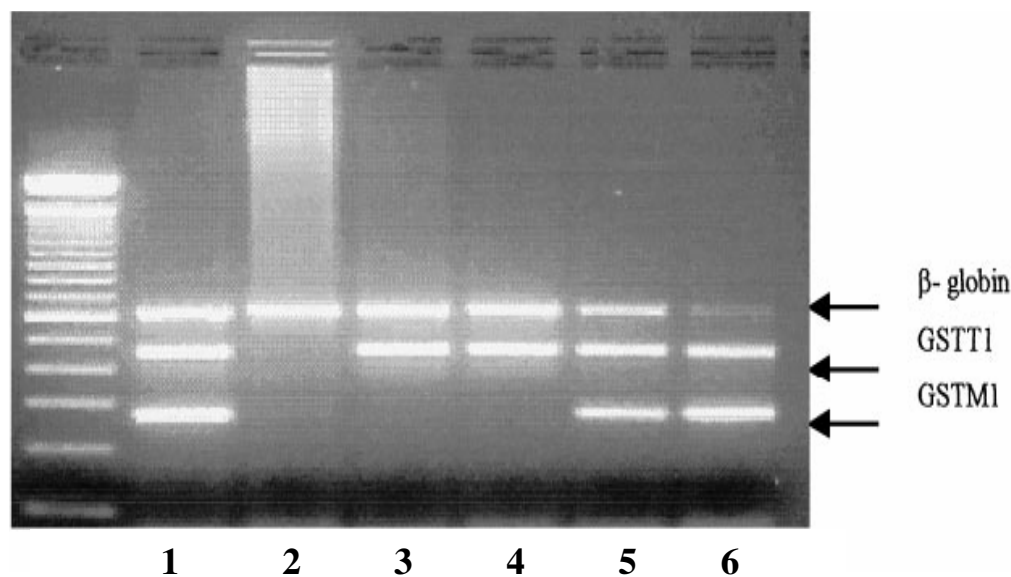


Figura 6- Gel de agarose 2% com o resultado de uma PCR-multiplex de pacientes-controle. Amostras 1, 5 e 6 possuem os genes GSTT1 e GSTM1, as amostras 3 e 4 apresentam a deleção do gene GSTM1 e a amostra 2 possui a deleção de ambos os genes. Podemos verificar a presença do DNA pela amplificação do gene da β -globina.

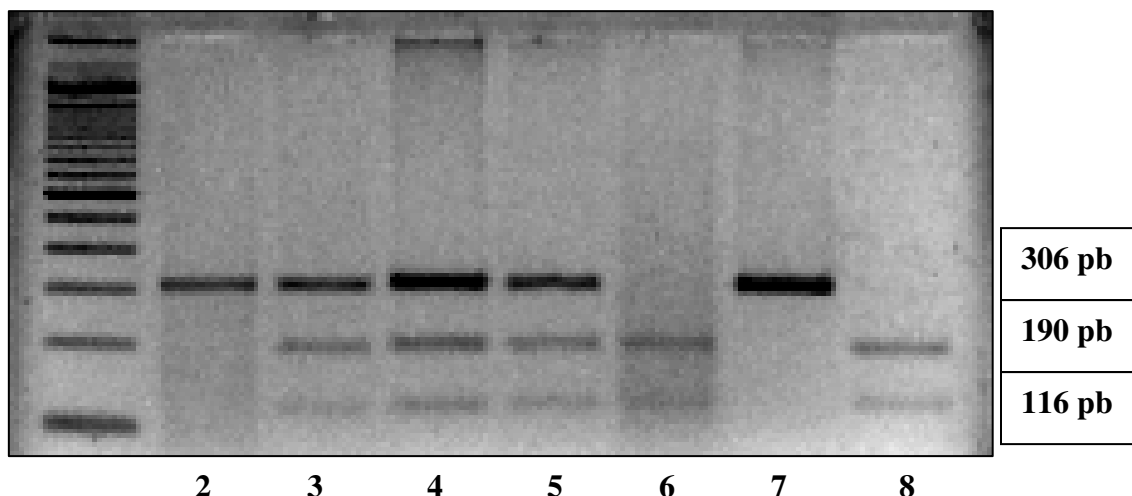


Figura 7- Gel de agarose 3% de GSTP1, corado com brometo de etídeo. Podemos observar na coluna 2 e 7 um indivíduo homocigoto selvagem, com apenas uma banda de 306 pb, nas colunas 3,4 e 5 observamos um indivíduo heterocigoto, que possui um fragmento de 306 pb, um de 190 e um de 116, e nas colunas 6 e 8 encontramos um indivíduo homocigoto polimórfico com fragmentos de 190 e 116 pb.

4.3- Resultados Perfil Alimentar

Na tabela 19 estão resumidas as características do Índice Dietético utilizado para traçar o perfil alimentar como fator de risco para desenvolvimento de câncer que está detalhado em anexo 1.

A tabela mostra o consumo de verduras e legumes, frutas, gorduras, cereais integrais, carnes, leite e arroz, correlacionado com a frequência do hábito de consumo nos 120 indivíduos entrevistados. Não houve diferença significativa da qualidade alimentar entre os pacientes - controle e câncer. Por esse motivo, agrupamos os resultados com o objetivo principal de traçar o perfil alimentar da população, podendo assim, indicar a conduta nutricional adequada a cada caso.

Apresentamos os dados em forma gráfica nas figuras 1 e 2 em que correlacionamos o hábito alimentar com a frequência de consumo.

Tabela 19- Análise do Perfil Alimentar dos diferentes grupos alimentares na população estudada

Grupo alimentar	D (%)	E (%)	N (%)
Verduras e legumes	28.33	23.33	48.33
Frutas	20	26.66	53.33
Óleos e gorduras	58.33	24.16	17.5
Cereias integrais	18.33	6.66	75
Carnes, legum. e ovo	68.33	21.66	10
Leite e derivados	56.66	26.66	16.6
Arroz, pães e tubérculos	88.33	6.66	5

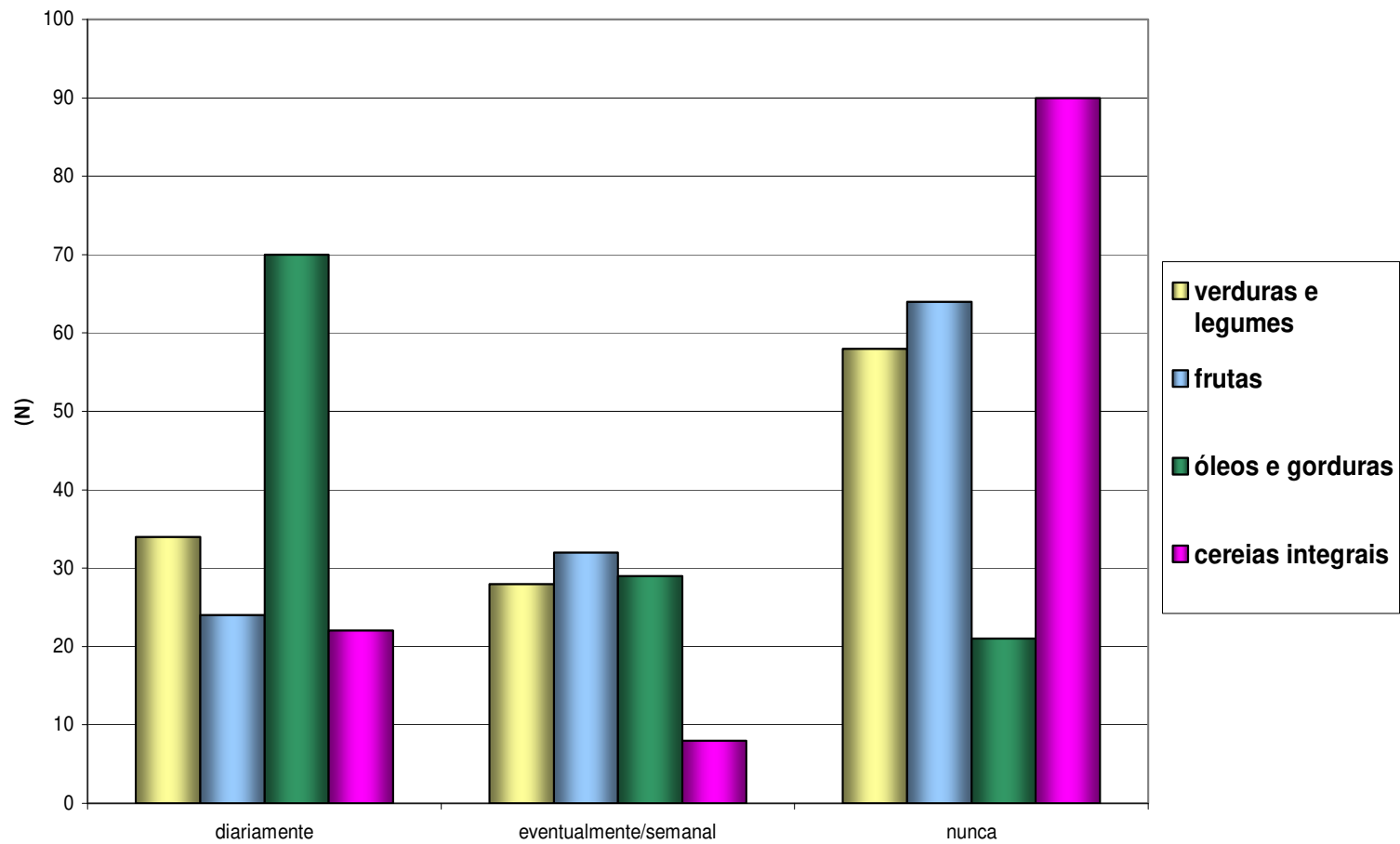


Gráfico 1- Hábito alimentar em relação a frequência de consumo

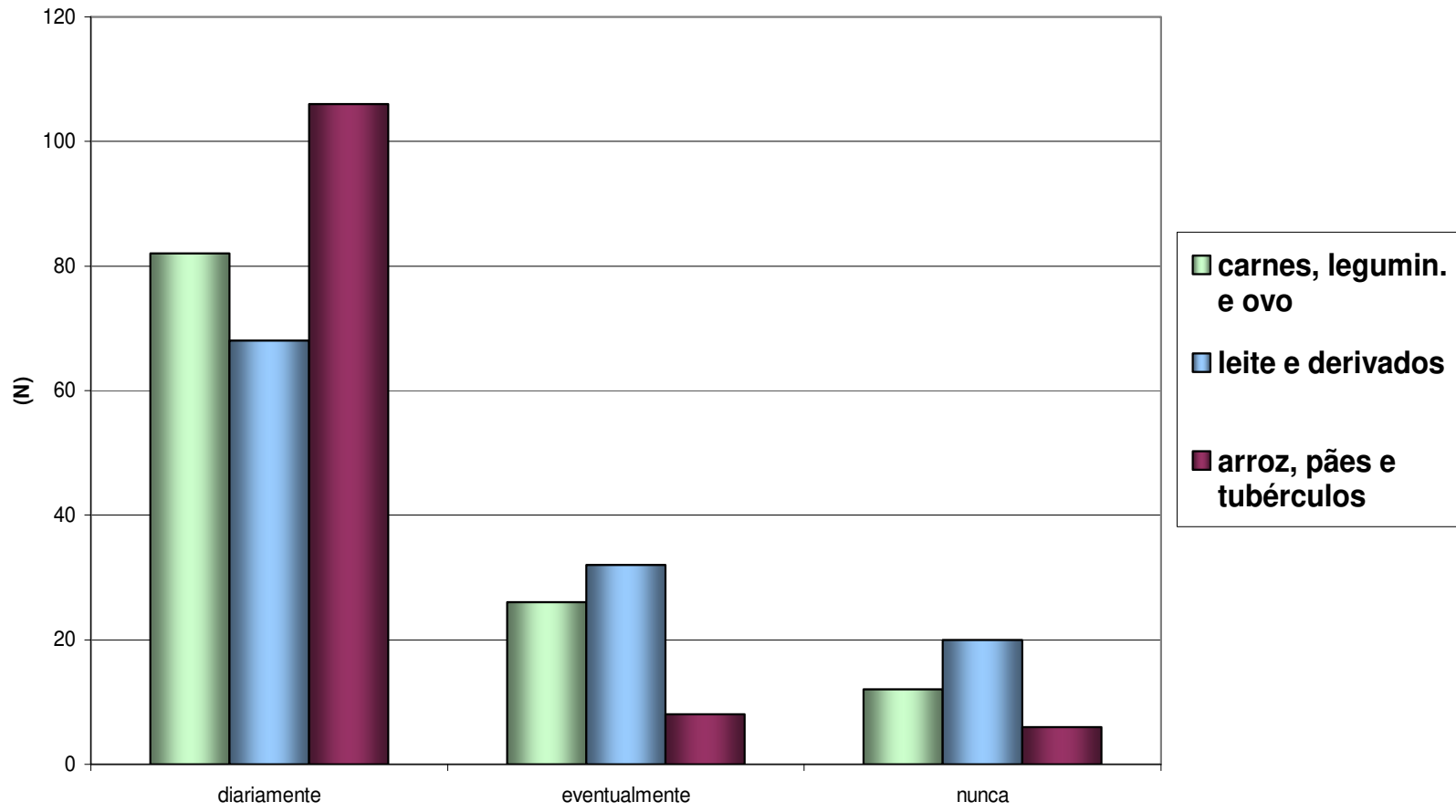


Gráfico 2- Hábito alimentar em relação a frequência de consumo

De acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), a avaliação nutricional qualitativa mostrou que os grupos de alimentos com maior inadequação de consumo foram o das verduras e legumes, com oferta média diária de apenas 28%, seguido das frutas 20%, enquanto a oferta de óleos e gorduras foi considerada excessiva com 58%.

Na tabela 20 estão sumarizadas as principais recomendações relacionadas à dieta para prevenção de câncer, incluindo a atividade física, conforme WCRF/AICR (1997) e a Organização Mundial da Saúde (Who, 2003). A figura 8 mostra uma alimentação equilibrada e saudável para indivíduos normais. As recomendações são baseadas em evidências científicas convincentes e prováveis da relação de causalidade entre o fator e a doença. De modo geral, recomenda-se uma dieta à base de vegetais, frutas e hortaliças (Who, 2003).

A dieta adequada contém fatores de proteção suficientes para garantir a redução do risco de câncer (Who, 2003).

Tabela 20- Recomendações alimentares para prevenção de câncer

TIPO
Em relação a fatores de proteção Consumo de uma dieta à base de alimentos de origem vegetal e rica e variada em frutas e hortaliças
Em relação a fatores de risco Evitar o consumo regular e elevado de bebida alcoólica, evite o fumo Moderar o consumo de carne vermelha Limitar o consumo de alimentos gordurosos (especialmente de origem animal), óleo e sal
Em relação a fatores associados à dieta Manter o peso saudável Praticar atividade física regularmente

Adaptado de WCRF/AICR (1997) e WHO (2003)

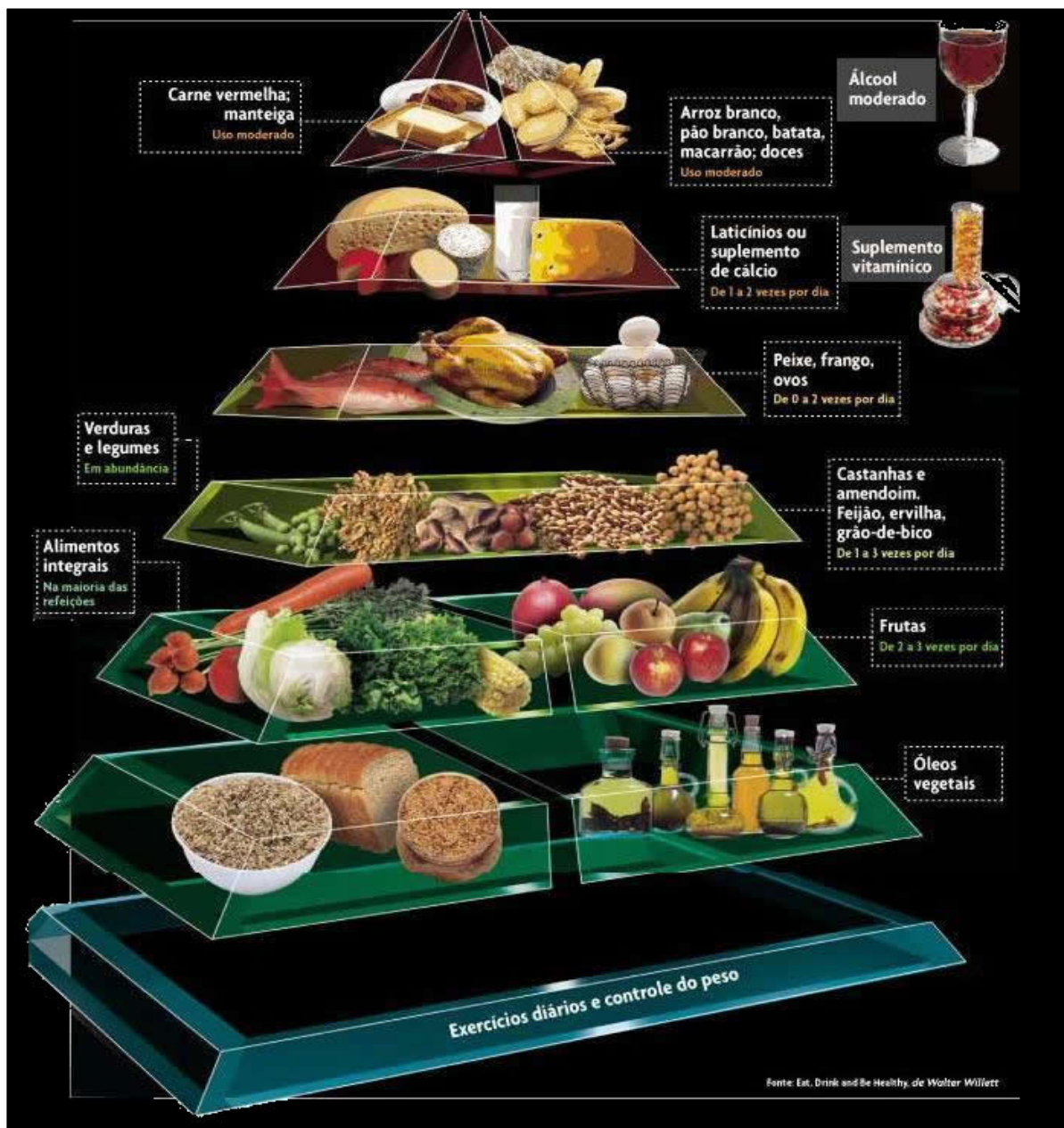


Figura 8- Pirâmide dos Alimentos

Em relação aos dados de atividade física resumidos na tabela 21, notamos que apenas 30% da população desenvolve qualquer atividade regular.

Tabela 21- Análise de Atividade Física de 120 indivíduos.

Idade		Sexo (%)		Atividade Física (%)	
M	F	M	F	S	N
18 - 46	24 - 62	31.66	68.33	30.83	69.1

S= sim, realiza atividades físicas regulares por 30 a 60 minutos/semana; N= não, não pratica atividades físicas regulares.

O hábito da prática de atividade física aparece freqüente em 37 pacientes *versus* 83 que não praticam atividade física como mostra o gráfico 3.

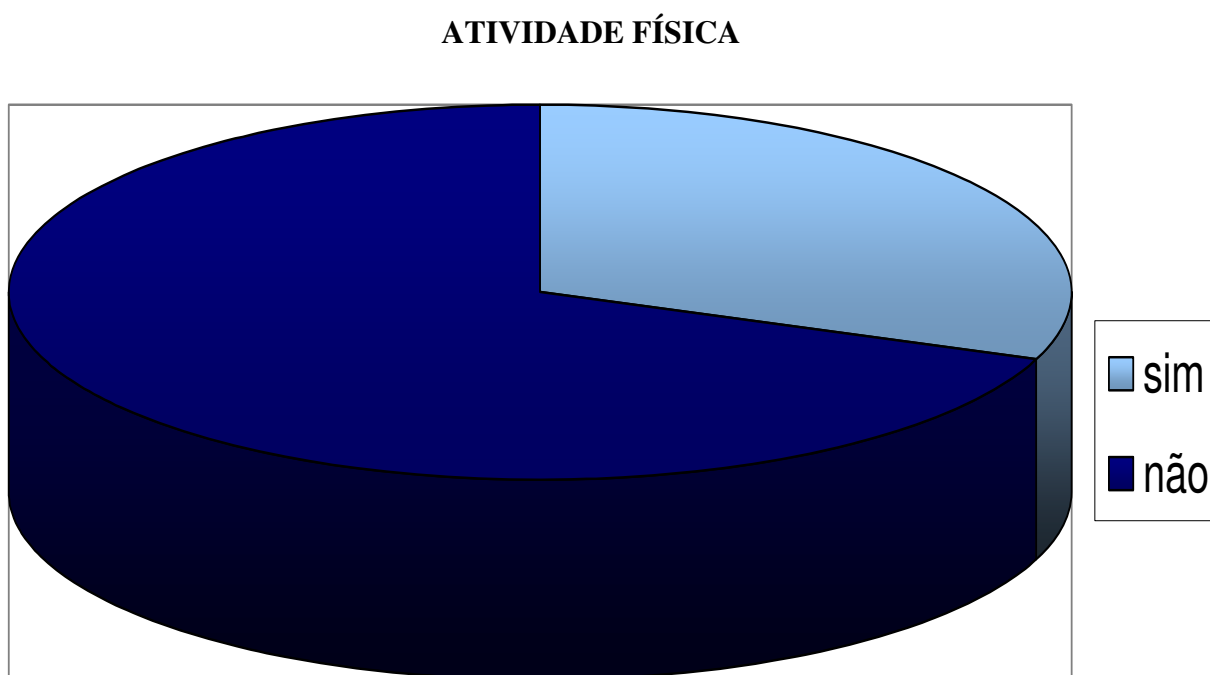


Gráfico 3- Frequência da atividade física na população estudada.

Devido ao pequeno número de indivíduos que realizam atividade física, não prosseguimos em qualquer tipo de análise estatística em relação à faixa etária ou sexo, ou qualquer relação com perfil genético ou alimentar.

Se as metas da Fundação Mundial de Pesquisa de Câncer e do Instituto Americano para pesquisa de Câncer (Wcrf/Aicr, 1997) forem atingidas, espera-se um impacto substancial na saúde pública em termos de redução da incidência de câncer (Naves, 2006).

5- DISCUSSÃO

5.1- As enzimas GSTs e Câncer

A exposição à radiação ionizante, principalmente em crianças, é o único fator ambiental reconhecido como capaz de levar à formação de tumores da tireóide, embora a deficiência de iodo também tenha sido ligada ao desenvolvimento de tumores por este mecanismo (Schlumberger et al, 1999; Ronckers et al, 2005). Radicais livres produzidos pela irradiação ionizante aumentam o estresse oxidativo formando produtos que reagem com o DNA e podem induzir mutações (Sarasin et al, 1999). Além disso, a radiação ionizante induz instabilidade genética que aumenta consideravelmente o risco de novas e sucessivas mutações, a reirradiação pode se acumular e levar a célula atingida a progredir em direção à formação de um clone de células tumorais (Nikiforov et al, 1998; Bounacer et al, 2000; Talini et al, 2002).

A incidência de câncer de próstata mostra íntima relação com raça, idade, bem como fatores geográficos, com altas taxas de prevalência e mortalidade nos homens afro-americanos e com menor incidência no homem asiático (Carter et al, 1992; Carter et al, 1993; Miller et al, 1996). Uma série de estudos epidemiológicos tem demonstrado que vários fatores ambientais, incluindo irradiação ultravioleta, poluentes, cigarro e dieta, bem como fatores geográficos e raciais devem contribuir para o desenvolvimento do CaP (Hising e Devesa 2001; Gronberg, et al, 2003).

Um dos poucos trabalhos de coorte que estudaram a relação entre câncer de ovário e paridade envolveu 107.865 mulheres durante 12 anos de acompanhamento, demonstrando que as que tiveram um ou mais partos tiveram redução na incidência de câncer e este efeito protetor foi maior à medida que ocorreu um aumento do número de partos (Hankinson et al, 1992).

O risco de desenvolver câncer de ovário foi menor em 38% nas pacientes que usaram anticoncepcionais orais por cinco anos, quando comparados com as pacientes que nunca usaram (Hankinson et al, 1992). A amamentação permite diminuir a ovulação e com isto reduz o risco para câncer de ovário em 19 a 27% dos casos estudados (Whittemore et al, 1994).

Estudos de polimorfismos em diversos tipos de câncer frequentemente apresentam diferentes resultados relacionados ao sexo, idade e a etnia das populações estudadas (Garte et al, 2001). Em contraste com a população espanhola estudada por Hernandez et al, e a população portuguesa estudada por Gaspar et al, a população brasileira possui alta heterogeneidade já que é composta por imigrantes da Europa, África e Ásia mesclados com indígenas da população nativa. Nossos hábitos alimentares, baseado em arroz e feijão, também diferem dos europeus. Além disso, muitas condições sociais e culturais contribuem para a exposição a diferentes fatores ambientais que podem ser muito importantes e que podem explicar as diferenças entre nossos resultados e de outros autores (Hernandez et al, 2003, Gaspar et al, 2004).

É muito provável que esta grande variedade de incidência esteja relacionada a uma interação entre exposição a genes desencadeadores de câncer e o perfil genotípico individual das proteínas envolvidas na defesa contra tais agentes desencadeadores de tumor (Arruda et al, 1998).

Um estudo clínico comparou jovens de 30 anos e idosos de 69 anos em média, ambos saudáveis. Os resultados mostram que os idosos apresentam níveis menores de GSH em relação aos jovens. (Ferreira et al, 1997)

Um estudo populacional realizado no Brasil, na cidade de Campinas, mostrou que o número de indivíduos homocigotos para o alelo de GSTM1 e GSTT1 foi de 36,9% e 17, 7%, respectivamente e para ambos os alelos foi de 5% (Arruda et al, 1998). Nossos próprios estudos e vários outros, inclusive o presente mostram números similares (Morari, 2002; Granja 2004). Como tanto os genes GSTT1 como GSTM1 têm uma variante nula, não é possível falar em equilíbrio de Hardy-Weimberg. No entanto, o presente estudo mostra que existe um desequilíbrio na distribuição das variantes do gene GSTP1 na população de pacientes portadores de câncer.

Numerosos estudos moleculares sugerem que o genótipo de GSTM1 modifica a suscetibilidade ao câncer (Hirvonen et al, 2001). Estima-se que 17% dos cânceres de pulmão e bexiga sejam relacionados à deficiência de GSTM1 (Engel et al, 2002; Mc Williams et al, 1995; Johns Le et al, 2000). Similar ao genótipo nulo de GSTM1,

o genótipo nulo de GSTT1, também tem sido relacionado ao aumento de risco para câncer de vários tipos (Strange et al, 1999; Sorensen et al, 2004). Indivíduos que são portadores de deleção combinada nos genes GSTM1 e GSTT1 podem ter a capacidade de metabolizar e eliminar compostos carcinogênicos prejudicada, podendo, portanto, ter um aumento no risco para câncer (Salagovic et al, 1998). Estudos prévios de nosso grupo já haviam demonstrado que tal combinação aumenta o risco para câncer de tireóide em 2.6 vezes (Morari et al, 2002).

Estudos epidemiológicos sugerem que o genótipo nulo do gene GSTM1 está associado à maior susceptibilidade a cânceres relacionados com o fumo (Salagovic et al, 1998). Vários estudos, compilados em extensa revisão de Hengstler et al, 1998, demonstram uma significativa associação entre a deleção do gene GSTM1 e o aumento no risco de câncer de pulmão. A deleção do gene GSTM1 também predispõe ao câncer de bexiga (Mungan et al, 2000; Lin et al, 1994; Aktas et al, 2001; Georgui et al, 2000), particularmente em pacientes fumantes (Salagovic et al, 1998). Também pode ser um fator de risco para câncer de cabeça e pescoço (Trinza et al, 1995). Hanna et al, 2001 encontraram uma associação significativa entre a deleção do gene GSTM1 e o risco de câncer de laringe, a qual parece novamente relacionado com o fumo (Hong et al, 2000; Gronau et al, 2000). No entanto, não pudemos confirmar tal dado em nossos casos, provavelmente porque os tumores por nós estudados tenham pouca relação com o cigarro. Na verdade, dados recentes de nosso grupo mostram que existe um perfil genético relacionado à menor incidência de câncer da tireóide entre fumantes (Búfalo et al, 2006).

O aumento do risco para leucemia mielóide aguda está associada com o genótipo nulo combinado de GSTM1 e GSTT1 (Arruda et al, 2001). Por outro lado, apenas a ausência do gene GSTT1 foi associada com a Síndrome mielodisplásica (Arai et al, 1999; Chen et al, 1996). Hong et al, sugeriram que a deleção do gene GSTT1 pode servir de fator predisponente ao câncer coloretal. Helzlsouer et al, 1998; Maugard et al, 2001, mostraram relação entre os genes GSTM1 e GSTT1 e o risco de câncer de mama. Existe um aumento no risco de câncer gástrico na população chinesa com a deleção do gene GSTT1 (Setiawan et al, 2000).

Em um estudo feito em nosso laboratório utilizando 67 pacientes de CaP encontrou-se um risco significativo de CaP em indivíduos com enzimas variantes de GSTP1, após ajuste de idade, tabagismo e uso de drogas. Os dados demonstram um aumento de 11 vezes para indivíduos com variantes de GSTP1 e os indivíduos com genótipos nulos combinados para GSTT1 e GSTM1 tiveram 2,9 vezes maior risco de câncer prostático comparados com a população considerada normal (Lima et al, 2004). Já para o câncer de ovário, um estudo de 84 mulheres com câncer de ovário e 312 controles não encontrou significância para a ausência dos genes GSTM1 ($p = 0.9$) e GSTT1 ($p = 0.8$) em 84 mulheres (Sharhani et al, 1996). Na Alemanha, estudos confirmaram que um estudo feito com 103 mulheres com câncer de ovário e 115 controles também não encontraram significância para a ausência dos genes GSTM1 ($p = 0.8$) e GSTT1 ($p = 0.9$) (Hengstler et al, 1998). Dados de nosso laboratório confirmam a ausência de aparente relação entre os genótipos para GSTT1 e GSTM1 e câncer de ovário (Morari et al, 2006).

Estudos recentes do gene GSTP1 em nosso laboratório mostram que este polimorfismo constitui um importante fator de risco para câncer de tireóide (Granja et al, 2004).

5.2- Alimentação e predisposição ao câncer

São crescentes as evidências da função crucial dos componentes da dieta na modificação do processo de carcinogênese (Reszka et al, 2006). Fatores nutricionais têm sido estimados como contribuintes para cerca de 20 a 60% dos cânceres mundiais (Shuklas e Gupta, 2005). Deficiências nutricionais têm sido imputadas como importante influência na incidência de câncer de estômago, cervical, tireóide, cólon, pâncreas, mama, rim, ovário, endométrio e próstata (W.Ynder et al, 1975). O consumo de cereais integrais é considerado um indicador para redução dos riscos de várias neoplasias (La Vecchia et al, 2003). O consumo de 400 – 600 g/dia de frutas e vegetais está associados com a redução de risco para câncer (Shuklas e Gupta, 2005).

Sugere-se que o risco para câncer de ovário tem possível associação com o elevado consumo de gorduras e ovos na dieta (Pan Sy et al, 2004), enquanto que o aumento do consumo de vegetais tem reduzido o risco de câncer de ovário (Lavisson Sc et al, 2004;).

Controle de peso, consumo de variedades e balanço na dieta, licopeno, soja, ômega-3, selênio, vitamina E, atividade física e não fumo são eficientes e recomendados para a prevenção do câncer de próstata (Wisard e Leisinger, 2006; Wu et al, 1991; Ross et al, 1998; Sunny et al, 2005). Um grande estudo de coorte, realizado no Hawaii (EUA), sugere que dieta rica em gordura animal e pobre em verduras e frutas está associada com aumento do risco para CaP (Giovanucci et al, 1993;). Agentes antioxidantes como licopeno, selênio, vitamina E também têm sido considerados capazes de reduzir o risco de CaP a partir de estudos de coorte que infelizmente, são limitados a populações específicas (Clark et al, 1997; Clark et al, 1998; Heinomem et al, 1998; Gann et al, 1999; Chen et al, 2001).

Dietas com frutas e vegetais talvez também possam reduzir o risco para câncer de tireóide (Markaki et al, 2003). Existem dados que sugerem aumento do risco de neoplasia tiroídiana em indivíduos que consomem cereais refinados, como os que existem no pão ou nas massas (Markaki et al, 2003).

Um estudo analisando o hábito alimentar da população rural italiana, demonstrou que entre os 488 indivíduos entrevistados entre 20 e 69 anos, não possuem o hábito de atividade física, tem um elevado consumo de gorduras e também de verduras, legumes, frutas, peixes e feijão, o autor destaca a disponibilidade dos alimentos devido a moradia dos entrevistados (Barbagallo et al, 2002). Outro estudo realizado na França, utilizando o Questionário de Frequência Alimentar, entrevistou 444 adultos com idade entre 25 e 54 anos, demonstrou que a população estudada tem um baixo consumo de verduras e legumes, levando ao risco de doenças crônicas (Nasreddine et al, 2006). O presente estudo demonstra dados similares ao anterior contribuindo para o risco do aparecimento de câncer em pacientes - controle e exigindo uma conduta alimentar diferenciada para a resposta terapêutica ao tratamento quimioterápico e radioterápico do paciente com câncer, levando assim a uma melhora da qualidade de vida e sobrevida do paciente.

O mecanismo pelo quais alguns alimentos protegem o organismo está longe de ser elucidado. Alguns estudos experimentais têm mostrado indução de produção de enzimas do sistema GST com consumo de antioxidantes, como Vitamina A e E em vegetais, levando animais a tolerar melhor exposição a carcinógenos (He L et al, 1997).

O consumo de verduras e legumes induz o desenvolvimento de enzimas de fase II do Sistema Glutathione S-transferase prevenindo o aparecimento do câncer. (Prochaska et al, 1993).

Estudos indicam que os níveis de concentração do tocoferol e retinol, importantes na modulação de genes do Sistema Glutathione S-transferase, são alterados com a idade, sexo, fumo e dieta (Faure et al, 2006).

Numerosos estudos mostram que o consumo de certos alimentos favorece a biotransformação de carcinógenos (Pool-Zobel et al, 2005).

A atividade física mantém o peso saudável do corpo e o balanço calórico. Evidências científicas indicam que a atividade física diminui muitos tipos de câncer (Kushi et al, 2006).

De acordo com as recomendações para se reduzir o risco de câncer, estudos sugerem que indivíduos saudáveis pratiquem 30 minutos de atividade física moderada por cinco dias (Vainio et al, 2002).

***6- RESUMO DOS ACHADOS E
CONCLUSÃO***

Resumo dos achados

Características como etnia, tabagismo, idade e sexo constituem fatores de risco para aumentar a susceptibilidade ao câncer.

Demonstramos que os genótipos GSTT1, GSTM1 e GSTP1 estão relacionados com o risco de desenvolvimento de câncer na população de Campinas.

A alimentação da população de Campinas é de baixa qualidade, deficitária em elementos protetores e rica em elementos relacionados a aumento no risco de câncer.

A atividade física da população de Campinas é inferior ao necessário para manter uma vida saudável.

Conclusão

Identificar os indivíduos que possuem um risco aumentado para o câncer é importante para planejar e implementar políticas de prevenção e estratégias de conduta não apenas em nível de saúde pública, mas também para cada paciente em particular. O uso de marcadores molecular de risco, identificados através de um simples exame em sangue periférico e de avaliações qualitativas de consumo alimentar poderiam auxiliar no rastreamento da malignidade.

Nossos dados sugerem que a implementação de políticas visando a melhoria na qualidade da dieta e o aumento da atividade física poderiam ter grande impacto na incidência de câncer, especialmente entre homens acima de 45 anos de idade.

Estudos de interação entre nutrientes e genes têm grande potencial na exploração de mecanismos de tumorigênese, identificando populações/indivíduos susceptíveis para desenvolvimento de estratégias que beneficiem a saúde humana.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adcock LI, Dehner Lp. Surgical Staging Of Ovarian Tumours: The Individual And Integrative Roles Of The Oncologist And Pathologist. *Curr Top Pathol.* 1989;78:41-68.

Adler V, Yin Z, Fuchs Sy, Benezra M, Rosario L, Tew Kd, et al. Pincus Mr, Sardana M, Hende. Regulation Of Jnk Signaling By Gstp1. *Embo J.* 1999 Mar 1;18(5):1321-34.

Agalliu I, Langeberg Wj, Lampe W, Salinas Ca, Stanford J L. Glutathione S- Transferase M1, T1 And P1 Polymorphisms And Prostate Câncer Risk In Middle- Aged Men. *Prostate*, 2005 Sep 19, Epub Ahead Of Print.

Akazaki K, Stemmerman Gn. Comparative Study Of Latent Carcinoma Of The Prostate Among Japanese In Japan And Hawaii. *J Natl Cancer Inst.* 1973 May;50(5):1137-44.

Aktas D, Ozen H, Atsu N, Tekin A, Sozen S, Tuncbilek E. Glutathine S- Transferase M1 Gene Polymorphism In Bladder Cancer Patients A Marker For Invasive Bladder Cancer? *Cancer Genetic Cytogenetic.* 125(!): 1-4, 2001.

Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao J X & Buolamwini J. Molecular Cloning, Characterization And Expression In Escherichia Coli Of Full - Length Cdnas Of Three Human Glutathione S- Tansferase Pi Gene Variants. Evidence For Differential Catalytic Activity Of The Encoded Proteins. *J Biol Chem*, 1997, 272, 10004-10012.

Alini M, Roughley Pj, Antoniou J, Stoll T, Aebi M A Biological Approach To Treating Disc Degeneration: Not For Today, But Maybe For Tomorrow. *Eur Spine J.* 2002 Oct., 11 Suppl 2:S215-20. Epub 2002 Aug 30.

Al-Wadei Ha, Schuller Hm. Glutathione S-Transferase Phenotypes In Relation To Genetic Variation And Fruit And Vegetable Consumption In An Endoscopy-Based Population. *Ethn Dis.* 2006 Autumn;16(4):963-70.

Ames Bn, Gold Ls. Carcinogenesis Debate. *Science*, 1990 14;250(4987):1498 -9.

Ames Bn, Profet M, Gold Ls. Dietary Pesticides (99,99% All Natural).*Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A-* 1990- 87:7777-7781.

Anderson, D. Antioxidant Defences Against Reactive Oxygen Species Causing Genetic And Other Damage. *Mutation Research*, Amsterdam, 1996, V.350, N.1, P.103-108.

Arai Y, Hirose N, Yamamura K, Nagai M., Jang H, Hattori , Ikeda Y. A Patient With Genetic Deletion Of Glutathione S- Transferase T1 And M1 Who Developed Non-Small-Cell Lung Câncer And Myelodysplastic Syndromes. *Am J Med Sci.* , 1999;318(6): 424-7.

Arruda V.R, Lima C.S, Grignolli C.E, Gonçales M.S, Soares M.C, Menezes R, et al.. Prevalence Of Homozygosity For The Deleted Of Glutathione S- Transferase Mu (Gstm1) And Theta (Gstt1) Among Distinct Ethnic Groups From Brazil: Relevance To Environmental Carcinogenesis? *Clin Genet* , 1998 54(3): 210-4.

Arruda Vr, Lima Cs, Grignoli Cr, De Melo Mb, Lorand-Meteze I, Alberto Fl, et al. Increased Risk For Acute Myeloid Leukaemia In Individuals With Glutathine S- Transferase Um 1 (Gstm1) Em Theta (Gstt1) Gene Defects. *Eur J Haematol*, 2001 66(6): 383-8.

Autrup H. Genetic Polymorphisms In Human Xenobiotica Metabolizing Enzymes As Susceptibility Factors In Toxic Response. *Mutat Res.*, 2000 464: 65-76.

Bailey J, Murdoch J, Anderson R, Weeks J, Foy C. Stage Iii And Iv Ovarian Câncer In The South West Of England: Five-Year Outcome Analysis For Cases Treated In 1998. *Int J Gynecol Câncer*. 2006 Jan-Feb;16 Suppl 1:25-9.

Barbagallo Cm, Et Al. Nutritional Characteristics Of A Rural Southern Italy Population: The Ventimiglia Di Sicilia Project. *J Am Coll Nutr*. 2002 Dec;21(6):523-9.

Barnett, Y.A., King, C.M. An Investigation Of Antioxidant Status, Dna Repair Capacity and Mutation As A Function Of Age In Humans. *Mutation Research*, Amsterdam, 1995 V.338, N.1/6, P.115-128.

Black S.M. & Wolf C.R. The Role Of Glutathione - Dependent Enzymes In Drug Resistance. *Pharmacol Ther* ,1991 51(1):139-54.

Bodiwala D Lucombe Cj, French Me, Liu S, Sax By Mf, Jones Pw, Ramachandrans, et al. Susceptibility To Prostate Cancer, 2003. Studies On Interactions Between Uvr Exposure And Skin Type.

Boling Hi, Et Al. Intake Of Fruits E Vegetais? Cancer Causes Control, 2006.

Bounacer A, Schlumberger M, Caillou B, Sarasin A, Suarez Hg. Radiation-Induced Thyroid Cânceres. Ann Endocrinol, 2000 61(2): 113-8.

Brasil. Ministério Da Saúde. (www.Minstério Da Saúde.Gov.Br).

Brawley Ow, Kramer Bs. Epidemiology Of Prostate Cancer, In Vogelsang Nj, Sacrdino Pt, Shipley Wu, Coffey Ds: Comprehensive Textbook Of Genitourinary Oncology. Baltimore, Williams & Wilkins, 1996 565-572.

Brussaard Jh, Lowik Mr, Steingrimsdottir L, Moller A, Kearney J, De Henauw S, Becker W; Efcosum Group. A European Food Consumption Survey Method--Conclusions And Recommendations. Eur J Clin Nutr. 2002 May;56 Suppl 2:S89-94.

Bufalo Ne, Leite Jl, Guilhen Ac, Morari Ec, Granja F, Assumpcao Lv, et al. Smoking And Susceptibility To Thyroid Cancer: An Inverse Association With Cyp1a1 Allelic Variants. EndocrRelatcancer.2006dec;13(4):1185-93.

Burguera B, Gharib H. Thyroid Incidentalomas. Prevalence, Diagnosis, Significance, And Management. Endocrinol Metab Clin North Am. 2000 Mar;29(1):187-203.

Carbone M, Pass Hi Multistep And Multifactorial Carcinogenesis: Whem Does A Contributing Factor Become A Carcinogen? Semin Câncer Biol., 2004 14 (6): 399-405.

Carlo La Vecchia Et Al. Session: Whole Cereal Graiss, Fibre And Human Cancer Who Legrain Cereals And Cancer In Italy. , 2003 Proceeding Of The Nutrition Society.

Carter Bs, Beaty Th, Steinberg Gd, Childs B, Walsh Pc Mendelian Inheritance Of Familial Prostate Cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 Apr 15;89(8):3367-71.

Carter Bs, Bova Gs, Beaty Th, Steinberg Gd, Childs B, Isaacs Wb, et al. Hereditary Prostate Cancer: Epidemiologic And Clinical Features. J Urol. 1993 Sep;150(3):797-802.

Cerutti, P.A. Oxidant Stress And Carcinogenesis. European Journal Of Clinical Investigation, Oxford, 1991. V.21, N.1, P.1-5.

Cerutti, P.A. Oxy-Radicals And Câncer. Lancet, London, 1994. V.344, N. 8926, P.862-863.

Chan Jm, Stampfer Mj, Ma J, Gann Ph, Gaziano Jm, Giovannucci El. Dairy Products, Calcium, And Prostate Cancer Risk In The Physicians' Health Study. Am J Clin Nutr. 2001 Oct;74(4):549-54.

Chatenoud L, La Vecchia C, Franceschi S, Tavani A, Jacobs Dr Jr, Parpinel Mt, et al. Refined-Cereal Intake And Risk Of Selected Cancers In Italy. Am J Clin Nutr. 1999 Dec;70(6):1107-10.

Chen H, Hayakawa D, Emura S, Ozawa Y, Taguchi H, Yano R, et al. Effect Of Low Calcium Diet On The Ultrastructure Of The Rat Parathyroid Gland. Okajimas Folia Anat Jpn. 2001 Dec;78(5):153-9.

Chen H, Sandler Dp, Taylor Ja, Shore Dl, Liu E, Bloomfiel Cd, et al. Incresed Risk For Myelodysplastic Syndromes In Individuals With Glutathione S- Transferase Theta 1 (Gstt1) Gene Defect. Lancet, 1996 347(8997):295-7.

Clapper Ml. Genetic Polymorphism And Câncer Risk. Curr Oncol Rep. Review, 2000 2(3): 251-6.

Clark M Nutrition Support Programs For Young Adult Athletes. Int J Sport Nutr. 1998 Dec;8(4):416-25.

Clark M, Ghandour G, Miller Nh, Taylor Cb, Bandura A, Debusk Rf. Development And Evaluation Of A Computer-Based System For Dietary Management Of Hyperlipidemia. J Am Diet Assoc. 1997 Feb;97(2):146-50.

Coeli Cm, Brito As, Barbosa Fs, Ribeiro Mg, Sieiro Ap, Vaisman M. Incidence And Mortality From Thyroid Câncer In Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005; 49:503-9.

Conover, W. J., *Practical Nonparametric Statistics*. 1971 New York. John Wiley & Sons.

Cox Dr, Skinner Jd, Carruth Br, Moran Iii J., Houck Ks. A Food Variety Index For Toddlers (Vit): Development And Application. *J Am Diet Assoc* 1997; 97(12):1382-88.

Cross Aj, Peters U, Kirsh Va, Andriole Gl, Reding D, Hayes Rb, et al. A Prospective Study Of Meat And Meat Mutagens And Prostate Câncer Risk. *Câncer Res.* 2005 Dec 15;65(24):11779-84.

Dhom G, Fruhe Neoplastische Veranderugen Der Prostate. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 1979 63: 218-231.

Dixon H, Mullins R, Wakefield M, Hill D. Encouraging The Consumption Of Fruit And Vegetables By Older Australians: An Experiential Study. *J Nutr Educ Behav.* 2004 Sep-Oct;36(5):245-9.

Drewnowski A, Henderson Sa, Shore Ab, Fischler C, Preziosi P, Hercberg S. Diet Quality And Dietary Diversity In France: Implications For The French Paradox. *J Am Diet Assoc.* 1996 Jul;96(7):663-9.

Drinkwater Nr; Sugden B. Sherman C.D.; Love R.R, Bosch F.X. Mecanismos Da Carcinogênese. Em Hossfeld, D.K.; *Manual De Oncologia Clínica 5ª Ed*, 1991 P 7-21. Fundação Oncocentro de São Paulo.

Eichholzer M. Nutrition And Câncer *Ther Umsch.* 2000 Mar;57(3):146-51.

Engel Ls, Tioli E, Pfeiffer R, Garcia Closas M Marcus Pm, Hana, Et Al. Oooled Analysis And Meta - Analysis Of Glutathione S- Trnsferase M1 And Bladder Câncer: A Huge Review. *Am J. Epidemiol*, 2002 156: 95- 109.

Faure H. Factors Influencing Blood Concentration Of Retinol, Alpha-Tocopherol, Vitamin C, And Beta-Carotene In The French Participants Of The Su.Vi.Max Trial. *Eur J Clin Nutr.* 2006 Jun;60(6):706-17.

Ferreira Al, Et Al. Radicais Livres: Conceitos, Doenças Relacionadas, Sistema De Defesa E Estresse Oxidativo. Rev Ass Med Brasil 1997; 43(1): 61-8.

Fleiss, J. L., Statistical Methods For Rates And Proportions. New York: John Wiley & Sons, 1981 2nd Ed.

Fotsis, T. Et Al. Flavonoids, Dietary-Derived Inhibitors Of Cell Proliferation And In Vitro Angiogenesis. Câncer Research, Baltimore, 1997 V.57, N.14, P.2916-2921.

Franks Lm. Latent Carcinoma Of The Prostate. J Pathol Bacteriol. 1954 Oct;68(2):603-16.

Franks Lm. Proceedings: Etiology, Epidemiology, And Pathology Of Prostatic Cancer. Cancer. 1973 Nov;32(5):1092-5.

Fryer Aa, Bianco A, Hepple M, Jones Pw, Strange Rc, Spiteri Ma. Polymorphism At The Glutathione S-Transferase Gstp1 Locus. A New Marker For Bronchial Hyperresponsiveness And Asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2000 May;161(5):1437-42.

Furlanetto Tw, Peccin S, De O Schneider Ma, Dos S Zimmer A, Dos Reis Ps, Genro Sk, et al. Prevalence Of Thyroid Nodules In 40 Years-Old Or Old Women] Rev Assoc Med Bras. 2000 Oct-Dec;46(4):331-4. Portuguese.

Gann. Diet And Prostate Cancer Risk: The Embarrassment Of Riches. Cancer Causes Control. 1998 Dec;9(6):541-3.

Garte S, Gaspari L, Alexandrie Ak, Ambrosone C, I. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies In Controlpopulations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001 Dec;10(12):1239-48.

Gaspar. Combined Effects Of Glutathione S-Transferase Polymorphisms And Thyroid Cancer Cancer Genet Cytogenet. 2004 May;151(1):60-7.

Georgiu I, Filiadis If, Alamanos Y, Bouba I, Giannakopoulos X, Lolis D. Glutathione S-Transferase Null Genotypes In Transitional Cell Bladder Cancer : A Case Control Study. Eur Urol., 2000 37(6):660-4.

Gerdes Lu, Jeune B, Ranberg Ka, Nybo H, Vaupel Jw Estimation Of Apolipoprotein E Genotype-Specific Relative Mortality Risks From The Distribution Of Genotypes In Centenarians And Middle-Aged Men: Apolipoprotein E Gene Is A "Frailty Gene," Not A "Longevity Gene". *Genet Epidemiol.* 2000 Oct;19(3):202-10.

Gey Kf. Vitamins E Plus C And Interacting Conutrients Required For Optimal Health. A Critical And Constructive Review Of Epidemiology And Supplementation Data Regarding Cardiovascular Disease And Cancer. *Biofactors.* 1998;7(1-2):113-74.

Giovannucci E, Rimm Eb, Colditz Ga, Stampfer Mj, Ascherio A, Chute Cc, et al. A Prospective Study Of Dietary Fat And Risk Of Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1993 Oct 6;85(19):1571-9.

Goldman R, Shields Pg. Food Mutagens. *J. Nutr.* 2003 3: 9655 – 9735.

Granja F, Morari Ec, Assumpcao Lv, Ward Ls. Gsto Polymorphism Analysis In Thyroid Nodules Suggest That Gsto1 Variants Do Not Influence The Risk For Malignancy. *Eur J Cancer Prev.* 2005 Jun;14(3):277-80.

Granja F, Morari J, Morari Ec, Correia La, Assumpção Lv, Ward Ls. Gst Profiling May Be Useful In Screening For Thyroid Nodule Malignance. *Câncer Lett.*, 2004 209, 129-137.

Gronau S, Koning Greger D, Rettinger G, Riechelmann H. (Gstm1 Gene Polymorphism In Patients With Head And Neck Tumors. *Laryngorhinootologie.* , 2000 79(6):341-4.

Gronberg H, Xu J, Smith Jr, Carpten Jd, Isaacs Sd, Freije D, et al. Early Age At Diagnosis In Families Providing Evidence Of Linkage To The Hereditary Prostate Cancer Locus (Hpc1) On Chromosome 1. *Cancer Res.* 1997 Nov 1;57(21):4707-9. Erratum In: *Cancer Res* 1998 Jul 15;58(14):3191.

Gronbergh Prostate Cancer Epidemiology. *Lancet.* 2003 Mar 8;361(9360):859-64.

Guengerich Fp, Thier R, Persmark M, Taylor Jb, Pemble Se, Ketterer B. Conjugation Of Carcinogens By Theta Class Glutathione S- Transferases : Mechanisms And Relevance To Variations In Human Risk. *Pharmacogenetics;* 1997 5:S 103-7.

Haas Gp, Sakr Wa Epidemiology Of Prostate Cancer. *Ca Cancer J Clin.* 1997 Sep-Oct;47(5):273-87.

Hankinson Se, Colditz Ga, Hunter Dj, Spencer Tl, Rosner B, Stampfer Mj. A Quantitative Assessment Of Oral Contraceptive Use And Risk Of Ovarian Cancer. *Obstet Gynecol.* 1992 Oct;80(4):708-14.

Hankinson Se, Colditz Ga, Hunter Dj, Willett Wc, Stampfer Mj, Rosner B, et al. A Prospective Study Of Reproductive Factors And Risk Of Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer.* 1995 Jul 15;76(2):284-90.

Hartwell L.H, Kastan M.B - Cell Cycle Control And Câncer. *Science* 1994 266: 1821 - 1828.

Haveman-Nies A, Tucker Kl, De Groot Lc, Wilson Pw, Van Staveren Wa. Evaluation Of Dietary Quality In Relationship To Nutritional And Lifestyle Factors In Elderly People Of The Us Framingham Heart Study And The European Seneca Study. *Eur J Clin Nutr.* 2001 Oct;55(10):870-80.

Hayes Jd, Pulford Dj. The Glutathione S- Transferase Supergene Family: Regulation Of Gst And The Contribution Of The Isoenzymes To Cancer Chemoprotetcion And Drug Resistence. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* ,1995 30(6): 445-600.

He L, Person I, Rylander R. Diet And Antioxidant--A Nutritional Intervention Study] *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 1997 Dec;18(6):325-7. Chinese.

Hegedus L, Bonnema Sj, Bennedbaek Fn. Management Of Simple Nodular Goiter: Current Status And Future Perspectives. *Endocr Rev.* 2003 Feb;24(1):102-32.

Heinomen A. Pelkonen O. Measurement Of Drug Metabolizing Enzyme Polymorphisms As Indicators Of Susceptibility. *Envirow Health Crit,* 2001 222: 146-201.

Heinonen Op, Albanes D, Virtamo J, Taylor Pr, Huttunen Jk, Hartman Am, et al. Prostate Cancer And Supplementation With Alpha-Tocopherol And Beta-Carotene: Incidence And Mortality In A Controlled Trial. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Mar 18;90(6):440-6.

Helzlsouer Kj. Association Between Glutathione S- Transferase M1, T1 And P1 Genetic Polymorphisms And Development Of Breast Cancer. J Natl Cancer Inst, 1998 1;90(7): 512-8.

Henderson Cj, McLaren Aw, Moffat Gj, Bacon Ej, Wolf Cr. Pi-Class Glutathione S-Transferase: Regulation And Function. Chem Biol Interact. 1998 Apr 24;111-112:69-82.

Hengstler Jg, Arand M, Hrrero Me, Oesch F. Polymorphisms Of N - Acetyltransferases, Glutathione S - Trnasferase, Microsomal Epoxide Hydrolase And Sulfotransferases: Influence On Cancer Susceptibility. Recent Results Canmcer Res, 1998 154:47-85.

Hercberg, S, Galan P, Preziosi P, Roussel A.M, Arnaud J, Richard, et al. Background And Rationale Behind The Su.Vi. Max Study, A Prevention Trial Using Nutritional Doses Of A Combination Of Antioxidant Vitamins And Minerals To Reduce Cardiovascular Diseases And Câncers. International Journal For Vitamins And Nutrition Research, Bern, 1998 V.68, N.1, P.3-20.

Hernandez. What Is Evidence-Based Public Health? Rev Salud Publica (Bogota). 2003 Jan-Apr;5(1):40-5. Spanish.

Hirvonen A. Pelkonen O. Measurement Of Drug Metabolizing Enzyme Polymorphisms As Indicators Of Susceptibility. Envirow Health Crit , 2001; 222: 146-201.

Holmes S. Nutrition And The Prevention Of Cancer. J Fam Health Care. 2006;16(2):43-6.

Hong Yj, Lee Jk, Lee Gh, Hong Si. Influence Of Glutathione S- Transferase M1 And T1 Genotypes An Larynx Cancer Risk Among Korean Smokers. Clin Chem Lab Med, 2000 38(9): 917-9.

Hosmer D.W. & Lemeshow S. L., Applied Logistic Regression. New York: 1989 John Wiley & Sons.

Hsing Aw, Devesa Ss. Trends And Patterns Of Prostate Cancer: What Do They Suggest? Epidemiol Rev. 2001;23(1):3-13.

Hu X, Ji X, Srivasrava Sk, Xia H, Awasthi S, Nanduri B, Awasthi Yc, et al. Mechanism Of Differential Catalytic Efficiency Of Two Polymorphic Forms Of Human Glutathione S-Transferase P1-1 In The Glutathione Conjugation Of Carcinogenic Diol Epoxide Of Chrysene. Arch Biochem. Biophys , 1997 345:32-38.

Hu X, O'donnell R, Srivastava Sk, Xia H, Zimniak P, Nanduri B, et al . Active Site Architecture Of Polymorphic Forms Of Human Glutathione S-Transferase P1-1 Accounts For Their Enantioselectivity And Disparate Activity In The Glutathione Conjugation Of 7beta,8alpha-Dihydroxy-9alpha,10alpha-OxY-7,8,9,10-Tetrahydrobenzo(A)Pyrene. Biochem Biophys Res Commun. 1997 Jun 18;235(2):424-8.

Inca. Instituto Nacional Do Câncer: Banco De Dados. [Http://www.Inca.Gov.Br](http://www.Inca.Gov.Br). Acesso Em Out, Nov 2006.

Jacob, R.A. The Integrated Antioxidant System. Nutrition Research, New York, 1995 V.15, N.5, P.755-766.

Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun Mj. Cancer Statistics, 2003. Ca Cancer J Clin. 2003 Jan-Feb;53(1):5-26.

Jemal A, Tiwari Rc, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer Ej, Thun Mj; American Cancer Society. Cancer Statistics, 2004. Ca Cancer J Clin. 2004 Jan-Feb; 54(1):8-29.

Johansson As, Stenberg G, Widersten M, Mannervik B. Struture- Activity Relationships Nd Thermal Stability Of Glutathione Transferase P1-1 Governed By The H- Site Residue 105. J. Mol Biol., 1998 278: 687-698.

Johansson J, Santala M, Kauppila A. Explosive Rise Of Serum Ca 125 Following The Rupture Of Ovarian Endometrioma. Hum Reprod. 1998 Dec;13(12):3503-4.

Johns Le, Houlston Rs. Glutathione S- Transferase Mul (Gstm1) Satatus And Bladders Cancer Risk: A Meta - Analyses. Mutagenesis, 2000 399-404

Kant Ak. Indexes Of Overall Diet Quality: A Review. J Am Diet Assoc. 1996 Aug;96(8):785-91.

Kapiszewska M. A Vegetable To Meat Consumption Ratio As A Relevant Factor Determining Câncer Preventive Diet. The Mediterranean Versus Other European Countries. Forum Nutr. 2006;59:130-53.

Ketterer B, Christodoulides Lg. Enzymology Of Cytosolic Glutathione S- Transferase. Adv Pharmacol 1994;27:37-69.

Ketterer B, Harris Jm, Talaska G, Meyer Dj, Pemble Se, Taylor Jb, et al. The Human Glutathione S-Transferase Supergene Family, Its Polymorphism, And Its Effects On Susceptibility To Lung Câncer. Environ Health Perspect. 1992 Nov;98:87-94.

Kim Jw, Loo Cg, Han Sm, Kim Ks, Kim Jo. Loss Of Heterozigosith Of The Retinoblastoma And P53 Genes In Primary Cervical Carcinomas With Human Papilomavirus Infection. Gynecol Oncol., 199767:215-21.

Knobel M, Medeiros-Neto G. Disorders Associated To Chronic Iodine Deficiency] Arq Bras Endocrinol Metabol. 2004 Feb;48(1):53-61. Epub 2004 Jun 1.

Knudsen Le. Benzene Exposure Assessed By Metabolite Excretion In Estonian Oil Shale Mineworkers: Influence Of Glutathione S-Transferase Polymorphisms. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004 Nov;13(11 Pt 1):1729-35.

Kushi Lh, Byers T, Doyle C, Bandera Ev, Mccullough M, Gansler T, et al. American Cancer Society Nutrition And Physical Activity Guidelines Advisory Committee. American Cancer Society Guidelines On Nutrition And Physical Activity For Cancer Prevention: Reducing The Risk Of Cancer With Healthy Food Choices And Physical Activity. Ca Cancer J Clin. 2006 Sep-Oct;56(5):254-81.

Lam Ky, Lan Sy, Fok M, Ma LT, Wong J. - Prognostic Implication Of Proliferative Markers Mi B1 And Pc10 In Isophageal Squamous Cell Carcinoma. Câncer ,1996 77:7-13.

Larsson Sc, Bergkvist L, Wolk A Milk And Lactose Intakes And Ovarian Cancer Risk In The Swedish Mammography Cohort. Am J Clin Nutr , 2004 80: 1353–1357.

Lear Jt, Heagerty Ah, Smith A, Bowers B, Payne Cr, Smith Ca, et al. Multiple Cutaneous Basal Cell Carcinomas: Glutathione S-Transferase (Gstm1, Gstt1) And Cytochrome P450 (Cyp2d6, Cyp1a1) Polymorphisms Influence Tumour Numbers And Accrual. Carcinogenesis. 1996 Sep;17(9):1891-6.

Leisinger Hj. Wisard M, Prostate Cancer Prevention Rev Med Suisse. 2006 Jan 11;2(48):163.

Lichtenstein P, Holm Nu, Verkasalo Pk, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvvo M, Pukkala E, Skytthe, Hemminki K. Environmental And Heritable Factors In The Causation Of Câncer - Analysis Of Cohorts Of Twins From Sweden, Denmark And Finland. N Engl J Med., 2000 343 (2): 78-85.

Lima Junior Mm, Ganja F, Morari J, Santos Lemc, Santos Neto Lc, Ward Ls. Gst Profile Identiy Prostate Câncer Risk In Brazilian Population. Mediators Of Inflammation: 2004- (4).

Lin Hj, Han Cy, Bernstein Da, Hsiao W, Lin Bk, Hard S. Ethnic Distribution Of The Glutathione Transferase Mu 1-1 (Gstm1) Nul Genotype In 1473 Individuals And Application To Bladder Cancer Susceptibility. Carcinogenesis, 1994 15(5): 1077-81.

Lundberg Po, Wahlstrom J Hormone Levels In Men With Extra Y Chromosomes. Lancet. 1970 Nov 28;2(7683):1133.

Markaki I, Linos D, Linos A. The Influence Of Dietary Patterns On The Development Of Thyroid Cancer. Eur J Cancer. 2003 Sep;39(13):1912-9.

Maugard Cm, Charrier J, Pitard A, Campion L, Akande O, Pleasants L, et al. Genetic Polymorphism At The Glutathione S- Transferase (Gst) P1 Locus Is A Breast Cancer Risk Modifier. Int J Cancer, 2001 1; 91(3): 334-9.

Mayne St. Antioxidant Nutrients And Câncer Incidence And Mortality: An Epidemiologic Perspective. Adv Pharmacol. 1997;38:657-75.

Mc Williams Je, Sanderson Bj, Harris El, Richert - Boe Ke, Henner Wd. Glutathione S-Transferase M1 (Gstm1) Deficiency And Lung Câncer Risk. *Câncer Epidemiol Biomarkers Prev* ; , 1995 4: 459-94.

Mettlin Cj, Murphy Gp, Cunningham Mp, Menck Hr. The National Cancer Data Base Report On Race, Age, And Region Variations In Prostate Cancer Treatment. *Cancer*. 1997 Oct 1;80(7):1261-6.

Miller Ba, Et Al. *Seer Cancer Statistic Review: 1973-1990*. Vol 93. National Cancer Institute Bethesda, P., 1996-2789.

Morari Ec, Leite Jlp, Granja F, Assumpção Lvm, Ward Ls. The Null Genotype Of Glutathione S- Transferase M1 And T1 Locus Increases The Risk For Thyroid Câncer. *Câncer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2002 11, 1485-1488.

Mungan Na, Aben Kk, Beeks E, Kampman E, Bunschoten A, Bussemakers M, Witjes Já, Kiemeneij La. A Germline Homozygote Deletion Of The Glutathione S- Transferase Mu1 Predisposes To Bladder Cancer. *Urol Int*, 2000 64(3): 134-8.

Nasreddine L, Et Al. Food Consumption Patterns In An Adult Urban Population In Beirut, Lebanon *Public Health Nutr*. 2006 Apr;9(2):194-203.

National Câncer Data, Cdc - Centers For Disease Control And Prevention: [Http:// Www.Cdc.Gov/Cancer/Natlancerdata.Htm](http://www.cdc.gov/cancer/natlancerdata.htm). Acessado em 11/2006.

Naves Mm. Dieta E Prevenção De Câncer. *Nutrição Em Pauta*, 2006 Dez.

Nielsen Ps, De Patern, Okkels H, Autrup H. Environmental An Pollution An Dna Adducts In Copenhagen Bus Drivers - Effect Of Gstm1 And Nat2 Genotypes On Adduct Levels. *Carcinogenesis* ,1996 17:1021-1027.

Niki, E., Nogushi, N., Tsuchihashi, H., Gotoh, N. Interaction Among Vitamin C, Vitamin E, And B-Carotene. *American Journal Of Clinical Nutrition*, 1995 V.62, N.6, P.1322-1326.

Nikiforov Ye, Nikiforova M, Fagin Ja. Prevalence Of Minisatellite And Microsatellite Instability In Radiation-Induced Post- Chernobyl Pediatric Thyroid Carcinomas. *Oncogene*. 1998 17(15): 1983-8.

O'Neill Jo. Dna Damage Repair Cell Proliferation Na Dna Replication: How Do Gene Mutations Results? Proceeding Of The National Academy Of Science Usa, 2000 97:111137-9.

Odinala D Lucombe Cj, French Me, Liu S, Sax By Mf, Jones Pw, Ramachandrans, Fr Yer, Strange Rc. Susceptibility To Prostate Câncer: Studies On Interactions Between Uvr Exposure And Skin Type. Carcinogenesis, 2003 24: 711-717.

Oota K Histogenesis Of Lung Cancer. Kyobu Geka. 1961 Apr;14:273-81. Japanese.

Oude, Ophuis Mb, Roelofs H, Brant Pa, Peters W.H.M, Manni, J.J. Polymorphisms Of The Glutathione S- Transferase P1 Gene Head And Neck Cancer Susceptibility. Head Neck, 2003 25, 37-43.

Palli D, Vineis P, Russo A, Berrino F, Krogh V, Masala G, et al. Diet, Metabolic Polymorphisms And Dna Adducts: The Epic-Italy Cross-Sectional Study. Int J Cancer. 2000 Aug1;87(3):444-51.

Pan Sy, Et Al. A Case - Contol Study Of Diet And The Risk Of Ovarian Cancer. Cancer Epidemid Biomarkers, 2004.

Pan Sy, Qu A, Hui P, Li Al. Principle Of Genetic Equilibrium For Two Gene Loci.] Yi Chuan. 2004 Mar;26(2):215-8. Chinese.

Parker As, Cerhan Jr, Putnam Sd, Cantor Kp, Lynch Cf. A Cohort Study Of Farming And Risk Of Prostate Cancer In Iowa. Epidemiology. 1999 Jul;10(4):452-5.

Parker Sl, Tong T, Bolden S, Wingo Pa. Cancer Statistics, 1996. Ca Cancer J Clin. 1996 Jan-Feb;46(1):5-27.

Patterson Re, Haines Ps, Popkin Bm. Diet Quality Index: Capturing A Multidimensional Behavior. J Am Diet Assoc 1994; 94(1):57-64.

Pavia M. Association Between Fruit And Vegetais Consumption And Oral Cancer A Meta-Analysis Of Observation Studies. Am J Clin Nutr, 2006.

Peluso M, Amasioe, Bonassis, Munnia A, Altrupa F, Parodi S. Detection Of Dna Adducts In Human Nasal Mucosa Tissue By 32p- Postlabeling Analysis. *Carcinogenesis*, 1997 18 (2): 339-44.

Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt H.M, et al. Human Glutathione S- Transferase Theta (Gstt1): C Dna Cloning And The Characterization Of A Genetic Polymorphism. *Biochem J* ,1994 - 300(Pt1): 271-6.

Perera Fp - Molecular Epidemiology And Preventin Of Câncer. *Environ Health Perspect*, 1995 103 Suppls 8: 233-6.

Pompella, A. Biochemistry And Histochemistry Of Oxidant Stress And Lipid Peroxidation. *International Journal Of Vitamin And Nutrition Research*, Bern, 1997. V.67, N.5, P.289-297.

Pool-Zobel B, Veeriah S, Bohmer Fd. Modulation Of Xenobiotic Enzymes B Anticarcinogens - Focus On Glutathione S- Transferase And Their Role Targets Of Dietary Chemoprevention In Colorectal Carcinogenesis. *Mutat Res*. 2005 Dec 11;591(1-2):74-92.

Pool-Zobel, B.L., Bub, A., Müller, H., Wollowski, I., Rechkemmer, G. Consumption Of Vegetables Reduces Genetic Damage In Humans: First Results Of A Human Intervention Trial With Carotenoid-Rich Foods. *Carcinogenesis*, New York 1997 V.18, N.9, P.1847-1850.

Prochaska Hj, Fernandes Cl. Elevation Of Serum Phase Ii Enzymes By Anticarcinogenic Enzyme Inducers: Markers For A Chemoprotected State? *Carcinogenesis*. 1993 Dec;14(12):2441-5.

Rabehorst, S.H; Burini, R.C.; Schimitt, F.C.L Marcadores De Proliferação Cellular. *Rev Bras Patol Clini*, 1993 29: 24-29.

Raney K.D.; Meyer D.J.; Ketterer B.; Harris T.M.; Guengerich F.P. Glutathione Conjugation Of Aflatoxin B1 Exo - And End - Epoxides By Rat And Human Glutathione S-Tranferases. *Chem Res Toxicol.* , 1992 5(4): 470-8.

Ray A. Cancer Preventive Role Of Selected Dietary Factors. *Indian J Cancer*. 2005 Jan-Mar;42(1):15-24.

Rebbeck Tr. Molecular Epidemiology Of The Human Glutathione S-Transferase Genotypes Gstm1 And Gstt1 In Câncer Susceptibility. *Câncer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997 Sep;6(9):733-43

Reszka E, Wasowicz W, Gromadzinska J. Genetic Polymorphism Of Xenobiotic Metabolising Enzymes, Diet And Câncer Susceptibility. *Br J Nutr*. 2006 Oct;96(4):609-19.

Ronckers Cm, Mccarron P, Ron E. Thyroid Cancer And Multiple Primary Tumors In The Seer Cancer Registries *Int J Cancer*. 2005 Nov 1;117(2):281-8.

Ross Da. Vitamin A And Public Health: Challenges For The Next Decade. *Proc Nutr Soc*. 1998 Feb;57(1):159-65.

Roth Mj, Abnet Cc, Johnson Ll, Mark Sd, Dong Zw, Taylor Pr, et al. Polymorphic Variation Of Cyp1a1 Is Associated With The Risk Of Gastric Cardia Cancer: A Prospective Case-Cohort Study Of Cytochrome P-450 1a1 And Gst Enzymes. *Cancer Causes Control*. 2004 Dec;15(10):1077-83.

Rous Sn, Bailie Md, Kaufman Db, Haddy Tb, Mattson Jc. Nodular Renal Blastema, Nephroblastomatosis, And Wilms' Tumor. Different Points On The Same Disease Spectrum? *Urology*. 1976 Dec;8(6):599-604.

Ruijter Et, Miller Gj, Van De Ka, Van Bokhoven A, Bussemakers Mj, Debruyne Fm, et al. Molecular Analysis Of Multifocal Prostate Cancer Lesions. *J Pathol*. 1999 Jul; 188(3):271-7.

Salagov J, Kalina I, Stubna J, Habalova V, Hrivnak M, Valansky L, Kohut A, Biroš E. Genetic Polymorphisms Of Glutathione S- Transferases M1 And T1 As A Risk Factor In Lung And Bladder Cancers. *Neoplasma*, 1998 45(5): 3 312-7.

Sarasin A, Bounacer A, Lepage F, Schlumberger M, Suarez Hg Mechanisms Of Mutagenesis In Mammalian Cells. Application To Human Thyroid Tumours. C R Acad Sci Iii. 1999 Feb-Mar;322(2-3):143-9.

Schlumberger Mj, Pacini F. Nodular Thyroid Diseases. Thyroid Tumors, 1999 Pp. 10-30 Paris, Edition Nucléon.

Schlumberger Mj. Diagnostic Follow-Up Of Well- Differentiated Thyroid Carcinoma: Historical Prespective And Current Status. J Endocrinol Inves , 1999 22(11 Suppl):3-7.

Schottenfeldd, Beebe - Dimmer J.L. Advances In Câncer Epidemiology: Understanding Casual Mechanisms And The Evidence For Implementing Interventions. Anneral Reviews Public Health ,2005 26:37-60.

Seidegard J, Ekstrom G. The Role Of Human Glutathione Transferases And Epoxide Hydrolases In The Metabolism Of Xenobiotics. Environ Health Perspect. 1997 Jun;105 Suppl 4:791-9.

Seidegard J.; Vorachek W.R.; Pero R.W.; Pearson W.R. Hereditary Differences In The Expression Of The Human Glutathione Transferase Active On Trantilbene Oxide Aer Due To A Gene Deletion. Proc Natl Acad Aci Usa. , 1998 85(19):7293-7

Setiawan Vw, Zhang Zf, Yu Gp, Li Yl, Lu Ml, Tsai Cj, et al., Gstt1 And Gstm1 Null Genotypes And The Risk Of Cancer : A Case - Control Study In A Chinese Population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 2000 9(1):73-80.

Shahani A Commentary: Models Can Be Powerful Tools For Making Decisions About Effective And Efficient Health Care. Bmj. 1996 Oct 26;313(7064):1057.

Shukla S, Gupta S. Dietary Agents In The Chemoprevention Of Prostate Cancer. Nutr Cancer; 2005 53(1):18-32.

Siegel, S. Estatística Não-Paramétrica Para As Ciências Do Comportamento. São Paulo: Mcgraw-Hill. 1975.

- Sies, H Strategies Of Antioxidant Defense. Eur J Biochem. Jul,1993 15;215(2):213-9.
- Sies, H. Strategies Of Antioxidant Defence. Review. European Journal Of Biochemistry, Berlin, 1993.V.215, N.2, P.213-219.
- Smaaland,R. Circadian Rhythm Of Cell Division. Cel Cycle Res 1996 20:241-266.
- Sorensen M, Autrup H, Tjonneland A, Overvad K, Raaschou - Nielsen O. Glutathione S-Transferase T1 Null – Genotype Is Associatedwith An Increased Risk Of Lung Câncer. Int J Câncer, 2004 110:219-24.
- Stavric, B. Antimutagens And Anticarcinogens In Foods. Food Chemical Toxicology, Oxford, 1994 V.32, N.1, P.79-90.
- Strange Rc, Fryer Aa. The Glutathione S- Transferase: Influence Of Polymorphism On Cancer Susceptibility. Iarc Sci Publ., 2001 148:231-249.
- Stucker I, Et Al. Genetic Polymorphisms Of Glutathione S- Transferase As Modulators Of Lung Cancer Susceptibility. Carcinogenesis, 2002 23, 1475-1481.
- Sundberg K, Johansson As, Stenberg G, Widersten M, Seidel A, et al. Differences In The Catalytic Efficiencies Of Allelic Variants Of Glutathione Transferase P1-1 Towards Carcinogenic Diol Epoxides Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Carcinogenesis, 1998 19:433-6.
- Sunny L. A Low Fat Diet Rich In Fruits And Vegetables May Reduce The Risk Of Developing Prostate Cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2005 Oct-Dec;6(4):490-6.
- Taioli E, Mari D, Franceschi C, Bonafe M, Monti D, Bertolini S, et al. Polymorphisms Of Drug-Metabolizing Enzymes In Healthy Nonagenarians And Centenarians: Difference At Gstt1 Locus. Biochem Biophys Res Commun. 2001 Feb 9;280(5):1389-92.
- Tallini G. Molecular Pathobiology Of Thyroid Neoplasms. Endocr Pathol. 2002 13(4): 271-88.

Tan Gh, Gharib H. Thyroid Incidentalomas: Management Approaches To Nonpalpable Modules Discovered Incidentally On Thyroid Imaging. *Ann Intern Med.* 1977 1:126 (3): 226-31.

Their R, Bruning T, Roos Ph, Golka K, Ko Y Bolt Hm. Markers Of Genetic Susceptibility In Human Environmental Hygiene And Toxicology: The Role Of Selected Cyp, Nat And Gst Genes. *Int J Hyg Environ Health* ,2003 206:149-171.

Thichopoulos D, Li Fp, Hunter Dj. What Causes Cancer? *Sci Am*, 1996 275:80-7.

Thilly Wg. Have Environmental Caused Oncomutations In People? *Nat Genet.*, 2003 34(3): 255-9.

Tijhuis Mj, Visker Mh. Glutathione S-Transferase Phenotypes In Relation To Genetic Variation And Fruit And Vegetable Consumption In An Endoscopy-Based Population. *Carcinogenesis*. 2006 Oct 27.

To-Figueras J. Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, Borrego N, Corbella J. Lung Câncer Susceptibility In Relation To Combined Polymorphisms Of Microsomal Epoxide Hydrolase And Glutathione S-Transferase P1. *Câncer Lett*. 2001 Nov 28;173(2):155-62.

Tomimori E, Pedrinola F, Cavaliere H, Knobel M, Medeiros-Neto G. Prevalence Of Incidental Thyroid Disease In A Relatively Low Iodine Intake Area. *Thyroid*. 1995 Aug;5(4):273-6.

Trinza Z, Clayman Gl, Spitz Mr, Briggs Kl, Goepfert H. Glutathione S- Transferase Genotypes As Risk Factors For Head And Neck Cancer. *Am J Surg*, 1995 170(5): 499-501.

Tsihlias J, Kapusta L, Slingerland J.- The Prognostic Significance Of Altered Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors In Human Câncer. *Anner Rev Med* ,1999 50: 401-423.

Tunbridge Wm, Evered Dc, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, et al. Lipid Profiles And Cardiovascular Disease In The Whickham Area With Particular Reference To Thyroid Failure. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1977 Dec;7(6):495-508.

Vainio H, Bianchini F. Weight Control And Physical Activity, Vol. 6. 2002. Lyon, France: International Agency For Research Cancer Press.

Vander Jb, Gaston Ea, Dawber Tr. Significance Of Solitary Nontoxic Thyroid Nodules;Preliminaryreport. N Engl J Med. 1954 Dec 9;251(24):970-3.

Vasconcellos Mt, Anjos La. Energy Adequacy Ratio (Intake/Requirements) As An Indicator Of Household Nutritional Assessment: A Critical Analysis Of Methods Applied To Food Consumption Surveys Cad Saude Publica. 2001 May-Jun;17(3):581-93.

Vineis P. Câncer As Evolutionary Process At The Cell Level: An Epidemiological Perspective. Carcinogenesis , 2003 24:1-6.

Vineis P. Diet, Genetic Susceptibility And Carcinogenesis. Ubluc Health Nutr.: 2001 485- 91.

Vineis P. Individual Susceptibility To Carcinogens. Oogene, 2004 2 (38): 6477-83.

Visakorpi, T. Proliferative Activity Determined By Dna Flow Cytometry And Proliferating Cell Nuclear Antigen (Pcn) Immunohistochemistry As A Prognostic Factor In Prostatic Carcinoma. J. Pathol. Set, 1992 168 (1):7-13.

W. Inder El. Overview: Nutrition And Cancer. Prev Med. 1975 Sep;4(3):322-7.

Waladkhani Ar, Clemens Mr Effect Of Dietary Phytochemicals On Cancer Development (Review) Int J Mol Med. 1998 Apr;1(4):747-53.

Ward, L.S. Entendendo O Processo Molecular Da Tumorigênese, Arq Bras Endocrinol Metab 2002; 46/4:351-360.

Waters, M.D, Stack H.F., Jackson M.A., Brockman H.E, De Flora S. Activity Profiles Of Antimutagens: In Vitro And In Vivo Data. Mutation Research, Amsterdam, 1996 V.350, N.1, P.109-129.

Wcr/Aicr- World Cancer Research Foundation/ American Institute For Cancer Research
Food Nutrition And The Prevention Of Cancer: A Global Prespective.
1997 Washington Dc.

Weinberg R. Oncogenes, Antioncogenes And The Molecular Bases Of Multistep.
Carcinogenesis. Cancer Res; 1989 49:3713-21.

Welker Mj, Orlov D. Thyroid Nodules. Am Fam Physician. 2003 Feb 1;67(3):559-66.

Whittemore. Characteristics Relating To Ovarian Cancer Risk: Implications For
Preventionanddetection. Gynecol Oncol. 1994 Dec;55(3 Pt 2):S15-9.

Wisard M, Leisinger Hj. Prostate Câncer Prevention Rev Med Suisse. Jan, 2006
11;2(48):163-5.

Wong. F.W.S. Immunohistochemical Detection Of Proliferating Tumor Cells In Cervical
Câncer Using Monoclonal Antibody Ki - 67. Gynecol Obstet Inest , 1994 37:123-126.

World Health Organization. Diet, Nutrition And Prevention Of Chronic Diseases. Geneva;
2003 (Who Technical Report Series, 916).

Wu Y, Zheng W, Sellers Ta, Kushi Lh, Bostick Rm, Potter Jd Active Site Architecture Of
Polymorphic Forms Of Human Glutathione S-Transferase P1-1 Accounts For Their
Enantioselectivity And Disparate Activity In The Glutathione Conjugation Of 7beta,
8alpha-Dihydroxy-9alpha,10alpha-Ox-7,8,9,10-Tetrahydrobenzo(A)Pyrene. Biochem
Biophys Res Commun. 1997 Jun 18;235(2):424-8.

Zur Hausen H. Cervical Carcinoma And Human Papillomavirus: On The Road To
Preventing A Major Human Cancer. J Natl Cancer Inst; 2001 93:252-3.

8- ANEXOS

Questionário - Frequência Habitual de Consumo

Nome: _____

Sexo: _____ Idade : _____

Consumo de verduras e legumes _____

Consumo de frutas _____

Consumo de gorduras e açúcares* _____

Consumo de cereais integrais _____

Consumo de carnes, ovos e leguminosas _____

Consumo de leite e derivados _____

Consumo de arroz, pães e tubérculos _____

8- Atividade Física () sim () não

*gorduras e açúcares - doces, frituras

Legenda:

D- Diariamente

E- Eventualmente

N- Nunca



LABORATÓRIO DE GENÉTICA MOLECULAR DO CÂNCER

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas - Departamento de Clínica Médica

TERMO DE CONSENTIMENTO

Projeto de Pesquisa em Genética Molecular do Câncer Ovário

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Laura Sterian Ward

Paciente ou Responsável pelo paciente

Sr(a).....

.....anos, RG:.....HC:.....

Endereço:.....

Telefone:.....

Concordo em doar sangue e/ou um pedaço do material retirado durante minha cirurgia para pesquisa de genes que podem estar envolvidos no aparecimento do câncer. Sei que se trata de uma pesquisa científica e concordo em que os dados de meu caso, registrados no meu prontuário médico, sejam usados para avaliar a importância dos genes, sabendo que meu nome assim como meus dados clínicos e de laboratório não serão individualmente citados e que em nenhum momento meu diagnóstico ou tratamento serão prejudicados por tal doação. Também sei que esta pesquisa pode trazer benefícios para a cura ou o tratamento do câncer no futuro, mesmo que eu não me beneficie disso agora. Não terei nenhum gasto com a doação do meu material para esta pesquisa e sei que poderei cancelar minha decisão e deixar de participar em qualquer momento. Também não serei submetido a qualquer procedimento que não faça parte da rotina de meu tratamento normal, sob a orientação de meu médico habitual.

Estou consciente da importância de minha participação da qual posso desistir em qualquer momento. Fui informado de que este projeto está aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e sei que poderei obter todas as informações que desejar e necessitar no fone: (19) 3521.8954.

