

HELEN NAEMI HONMA

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS NOS GENES
*CYP1A1*2A, GSTM1, GSTT1* E *GSTP1*B* NA
SUSCEPTIBILIDADE AO CÂNCER DE PULMÃO**

CAMPINAS

2007

HELEN NAEMI HONMA

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS NOS GENES
CYP1A1*2A, GSTM1, GSTT1 E GSTP1*B NA
SUSCEPTIBILIDADE AO CÂNCER DE PULMÃO**

*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 em
Clínica Médica.*

Orientador: Prof. Dr. Lair Zambon

Co-Orientador: Prof^ª. Dra. Carmen Sílvia Passos Lima

CAMPINAS

2007

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

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

H758i Honma, Helen Naemi
Influência dos polimorfismos nos genes *CYP1A1*2^A*, *GSTN1*,
GSTT1 e *GSTP1*B* na susceptibilidade ao Câncer de Pulmão / Helen
Naemi Honma. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

Orientador es: Lair Zambon, Carmen Silvia Passos Lima
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Polimorfismos (Genética). 2. Glutathione transferase. 3.
Susceptibilidade a doença. 4. Pulmão Cancer. I. Zambon, Lair. II.
Lima, Carmen Silvia Passos. III. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

**Título em inglês : “Influence of the polymorphisms CYP1A1*2A, GSTM1,
GSTT1 and GSTP1 genes on lung cancer susceptibility”**

Keywords: • Polymorphisms
• Glutathione transferase
• Susceptibility
• Lung cancer

Titulação: Mestre em Clínica Médica
Área de concentração: Clínica Médica

Banca examinadora:

Profa. Dra. Lair Zambon
Profa. Dra. Mônica Barbosa de Mello
Prof. Dr. Ricardo Kalaf Mussi

Data da defesa: 31 - 08 - 2007

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof. Dr. Lair Zambon

Membros:

1. Prof(a). Dr(a) .Mônica Barbosa de Melo

2. Prof(a). Dr(a). Ricardo Kalaf Mussi

3. Prof(a). Dr(a). Lair Zambon

**Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Ciências Básicas,
da Faculdade de Clínica Médica da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 31/08/2007

Ao **Prof. Dr. Lair Zambon**, pela confiança, estímulo e dedicação, sem os quais não teria finalizado esta dissertação.

À **Profª. Dra. Carmen Silva Passos Lima** pela paciência e incentivo dedicado ao projeto.

Aos residentes da Disciplina de Pneumologia: **Ronaldo F. Macedo, Luiz A Bragagnolo Jr, Marcelo Schweller, Tiago AG Grangeia, Reinaldo AC Massucio, Rodrigo FM Mussi e Aurélio R Almeida** pela ajuda na triagem dos pacientes nos ambulatórios e enfermaria.

Aos professores da Disciplina de Pneumologia pelo apoio e incentivo, em especial ao **Prof. Dr. Eduardo Mello De Capitani**, pelos grandes esclarecimentos, incentivo e amizade, meu muito obrigado.

Aos professores da Disciplina de Cirurgia Torácica, pelo grande incentivo e amizade.

Ao **Aristóteles Barbeiro, Maurício Wesley Perroud Jr e Ricardo Beneti** pela amizade.

Às secretárias da Disciplina de Pneumologia: **Margaret Tercilia dos Reis e Vera Lúcia Pinto de Moraes de Oliveira**, em especial à Vera pelas palavras de conforto nas horas difíceis e pela ajuda na aquisição e devolução dos prontuários.

Aos amigos do Hemocentro, pelo carinho e amizade, em especial à **Ucha e Deva** pelo apoio técnico.

Ao **Gustavo Lourenço** pela cooperação de sempre.

À **Hélvia do Nascimento** pela cooperação na obtenção dos controles.

Ao pessoal da coleta de sangue do LPC, em especial à **Jane, Eunice e James** que sempre estiveram dispostos a ajudar na coleta de sangue dos pacientes.

Aos estatísticos: **Sirlei Siane** e **Roberto Zulli** pelas análises e esclarecimentos estatísticos.

Ao **Carlos Augusto Mourão** pela amizade de sempre.

Aos amigos plantonistas do LPC (laboratório de hematologia) que foram minha segunda família na hora dos desabafos, principalmente à **Tânia Machado, Regina Ozaki, Sandra Bonon** e **Edna Mudo**.

Às minhas grandes amigas: **Rosineide Aparecida Conde** e **Márcia Regina Tabossi** pela presença sempre iluminada e estimulante na minha vida.

À minha amiga **Viviane Cristina Fais**, pela amizade e companheirismo como vizinhas de laboratório.

Aos **pacientes** que participaram deste estudo, que mesmo na dor da doença, sempre se mostraram dispostos a cooperar. Minha especial homenagem a alguns pacientes que ficarão em minha memória, pois me ensinaram a nunca perder a esperança.

Ao **Ricardo**, que muitas vezes foi deixado de lado, meu muito obrigado pela compreensão, carinho e apoio nas horas difíceis.

Aos meus pais **Oscar** e **Alice**, toda gratidão do mundo por me terem dado a vida e por serem companheiros dedicados.

Aos meus **irmãos** e **cunhadas** que, mesmo de longe, me incentivaram muito para o término desta dissertação.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas: **Thiago, Kiara, Lucas, Kamila, Bruno** e **Bárbara**, vocês são a razão da minha vida.

E a **DEUS**, por sempre estar ao meu lado em minhas orações, me estimulando e me protegendo sempre para a realização do meu trabalho.

MEU MUITO OBRIGADO À TODOS.

	<i>Pág.</i>
RESUMO	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxxi</i>
INTRODUÇÃO	35
1- Considerações Gerais	37
2- Aspectos Clínicos	38
3- Etiologia	39
3.1- Fatores Externos.....	39
3.2- Fatores Genéticos.....	39
3.2.1- Gene <i>CYP1A1</i>	41
3.2.2- Genes <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1*B</i>	43
OBJETIVOS	47
1- Geral	49
2- Específicos	49
CASUÍSTICA E MÉTODOS	51
1- Avaliação Clínica	53
2- Análise Molecular dos genes <i>CYP1A1*2A</i>, <i>GSTM1</i>, <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i>	54
2.1- Extração de DNA a partir dos leucócitos.....	54
2.2- Identificação dos polimorfismos do gene <i>CYP1A1*2A</i>	54
2.3- Identificação dos polimorfismos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>	55
2.4- Identificação dos polimorfismos dos genes <i>GSTP1*B</i>	55

3- Aspectos Éticos.....	57
4- Análise Estatística.....	58
RESULTADOS.....	59
1- Aspectos Clínicos.....	61
2- Análise Molecular do gene <i>CYP1A1</i>*2A.....	62
2.1- Polimorfismos gênicos em CP e controles.....	62
2.2- Aspectos Clínicos X Genotípicos.....	64
3- Análise Molecular dos genes <i>GSTM1</i>, <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i>*B.....	80
3.1- Polimorfismos gênicos em pacientes e controles.....	80
DISCUSSÃO.....	91
CONCLUSÕES.....	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105
ANEXOS.....	121
Anexo I.....	123
Anexo II.....	127
Anexo III.....	132
Anexo IV.....	136
Anexo V.....	142
Anexo VI.....	144
Anexo VII.....	146

LISTA DE ABREVIATURAS

β	beta
μ l	microlitro
A	Adenina
BPDE	Epóxido Diol Benzo(a)pyreno
C	Citosina
CP	Câncer de Pulmão
CPNPC	Carcinoma Pulmonar não Pequenas Células
CPPC	Carcinoma Pulmonar Pequenas Células
CYP	Gene citocromo P450
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio- Padrão
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetracético
G	Guanosina
GST	Glutathione S-transferase
GSTM1	Gene mu 1 do sistema da glutathione S-transferase
GSTT1	Gene theta 1 do sistema da glutathione S-transferase
HC	Hospital das Clínicas
HCl	Ácido Clorídrico
Het	Heterozigoto
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
IC	Intervalo de Confiança
Ile/Ile	Homozigoto Isoleucina

Ile/Val	Heterozigoto Isoleucina/ Valina
Kb	Kilobase
KCl	Cloreto de Potássio
M	Metástases
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
Min	minuto
mM	Milimolar
Mut	Mutante
N	Nódulo
Nº	Número
OR	Razão das Chances
pb	par de base
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
pH	determinação da concentração de íons H ⁺
pmol	picomol
RFLP	Polimorfismo em relação ao tamanho dos fragmentos de restrição
SAS	Análise de sistema estatístico
Selv	Selvagem
T	Timina
T	Tumor
TMN	Tumor, Metástase e Nódulos
Val/Val	Homozigoto Valina
X ²	Qui- quadrado

	Pág.
Tabela 1- Distribuição dos 200 CP e 263 controles de acordo com idade, sexo, raça e tabagismo.....	61
Tabela 2- Distribuição de 200 CP de acordo com o estágio, tipo histológico e anos/maço.....	62
Tabela 3- Frequências dos polimorfismos <i>CYP1A1*2A</i> em CP e controles e a combinação <i>GSTs</i>	63
Tabela 4- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTM1</i> (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas..	65
Tabela 5- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTM1</i> em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas.....	67
Tabela 6- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTT1</i> (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas..	69
Tabela 7- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTT1</i> em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas.....	71
Tabela 8- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTM1/T1</i> (isolados) em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas..	73
Tabela 9- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTM1/T1</i> em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas.....	46
Tabela 10- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTP1</i> em pacientes com CP e suas combinações.....	76
Tabela 11- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTP1</i> (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas..	77
Tabela 12- Frequências dos polimorfismos dos genes <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTP1</i> em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas.....	79

Tabela 13-	Frequências dos genes polimórficos <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i> (isolados e combinados) em pacientes com CP e controles.....	81
Tabela 14-	Frequências dos polimorfismos dos genes <i>GSTM</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i> (isolados) em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas..	85
Tabela 15-	Frequências dos polimorfismos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas.....	86
Tabela 16-	Frequências dos Polimorfismos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTP1</i> em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas.....	87
Tabela 17-	Frequências dos polimorfismos dos genes <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1</i> (isolados) em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas.....	88
Tabela 18-	Frequências dos polimorfismos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTP1</i> em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas.....	90

	<i>Pág.</i>
Figura 1- Localização das variações do gene <i>CYP1A1</i>	42
Figura 2- Análise da PCR-RFLP para o gene <i>CYP1A1</i> *2A.....	64
Figura 3- Polimorfismo dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em pacientes com CP.....	83
Figura 4- Polimorfismo do gene <i>GSTP1</i> *B em pacientes com CP.....	84

	<i>Pág.</i>
Quadro 1- Sequência dos “primers” utilizados (Imprint Genetics Corp), tamanho do fragmento amplificado e temperatura de anelamento utilizados para o rastreamento dos genes <i>CYP1A1*2A</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1*B</i>	57



RESUMO

A citocromo P- 450 1A1 (CYP1A1) é uma importante enzima do metabolismo carcinogênico, em virtude da regulação polimórfica, a CYP1A1 é um marcador genético promissor para susceptibilidade de certas malignidades, particularmente o câncer de pulmão (CP). A primeira variação detectada (chamada de m1 ou *2A) foi a transição de T→C no exon 7 com 1194pb, criando um sítio de clivagem para a enzima *MspI*. Esta alteração foi mais prevalente em Asiáticos do que em Caucasóides. Os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* vem sendo estudados extensivamente em relação ao CP, pois estão relacionados com a perda completa ou redução da atividade de certos xenobióticos metabolizados por enzimas. O genótipo variante Val/Val do gene *GSTP1**B tem uma maior atividade para com o epóxido diol hidrocarbono e BPDE, portanto um menor potencial de detoxificação, resultando em um grande risco para o câncer. O objetivo deste estudo foi analisar a susceptibilidade dos genes polimórficos para o risco em CP e a correlação dos genótipos com as interações das variáveis clínicas. Para cumprir tais objetivos, o DNA genômico de 200 pacientes com CP e 264 doadores de sangue (controles), foram analisados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e digestão enzimática. Frequências similares da deleção homozigótica dos genes polimórficos isolados *GSTM1* (45,5% vs 48,1% $p=0,14$), *GSTT1* (13,5% vs 12,9% $p=0,54$), *GSTM1/T1* ambos nulos (6,0% vs 4,9% $p=0,83$), da variante Val/Val do gene *GSTP1* (12,5% vs 11,4% $p=0,87$) e da variante *CYP1A1**2A (5,5% vs 3,4% $p=0,69$) foram observadas em pacientes e controles. Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências de todos estes genótipos. Os resultados sugerem que os genótipos isolados e combinados não influenciaram o risco para CP, mas podemos sugerir que na população Afro-Brasileira estudada, há indícios de uma associação dos genótipos hetero/ variante do gene *CYP1A1**2A e *GSTs* possam levar a uma maior susceptibilidade para o CP.



ABSTRACT

Cytochrome_P-450 A1 (*CYP1A1*) is an important enzyme of carcinogen metabolism. Due to polymorphic regulation, *CYP1A1* is a biomarker of genetic susceptibility to certain malignancies, especially lung cancer (LC). The first detected variation, named m1 or *2A, was a T-to-C transition in exon 7, with 1194bp, which produced a breakage point for the *MspI* enzyme. Originally, more Asians than Caucasians presented with LC. Intensive studies have shown that *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* genes are related to LC, which may lead to whole loss or certain hazard reduction. The *GSTP1* Val/Val variant genotype has a strong activity, especially along with hydrocarbon diol epoxide and BPDE, leading to detoxification potency. The purpose of this study was to analyze the susceptibility of polymorphism genes to LC risk and the correlation of genotypes with clinical variations. In order to achieve these objectives, the genomic DNA of 200 patients with LC and 264 blood donors (controls) were analyzed through PCR and enzymatic digestion. Similar frequencies of homozygotic deletion of polymorphic isolated genes were observed in patients and controls, as follows: *GSTM1* (45.5% vs 48.1%, $p= 0.14$), *GSTT1* (13.5% vs 12.9%, $p= 0.54$), *GSTM1/T1* both null (6.0% vs 4.9%, $p= 0.83$), *GSTP1* gene Val/Val variant (12.5% vs 11.4%, $p= 0.87$) and the *CYP1A1**2A variant (5.5% vs 3.4%, $p= 0.69$). The differences observed among the frequencies of all combined genotypes were not significant. The final results suggested that isolated and combined genotypes did not influence LC risk; on the other hand, there is a high susceptibility for LC in African-Brazilian people with *CYP1A1**2A and *GSTs* hetero/variant genotypes.



INTRODUÇÃO

1-Considerações Gerais

Câncer é a designação dada ao conjunto de manifestações patológicas que se caracterizam pela perda de controle da proliferação celular, pela capacidade de invadir tecidos adjacentes e disseminar para tecidos distantes. Esta perda de controle da proliferação celular é consequência direta de danos nos mecanismos de regulação e, deste modo, podemos afirmar, que câncer é o resultado dos danos ocorridos nos genes que controlam o ciclo celular (Pinto e Felzenszwalb, 2003).

Há uma crescente evidência que fatores genéticos podem aumentar o risco de câncer de pulmão, principalmente os que envolvem carcinógenos e metabolismos, mas não há nenhum relato de alteração genética, que de forma decisiva, aponte maior risco para esta neoplasia (Younes, 2006).

O câncer de pulmão (CP) é a neoplasia de maior mortalidade e a sua principal causa é o consumo do tabaco, segundo Younes (2006) e Zambon et al. (2006), além de fatores genéticos que potencializam seus riscos, como os genes polimórficos que codificam enzimas envolvidas no metabolismo de componentes carcinogênicos, podem estar relacionados com as diferenças inter individuais na susceptibilidade ao câncer (D'Errico et al, 1996).

O tabagismo é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a principal causa de morte evitável em todo o mundo. Estima-se que um terço da população mundial adulta, isto é, um bilhão e duzentos milhões de pessoas sejam fumantes. Nos países desenvolvidos, 42% da população masculina e 24% da feminina são fumantes, mas esta situação vem mudando. Entretanto, nos países em desenvolvimento, quase a metade da população masculina ainda é fumante (INCA, 2006).

O total de mortes devido ao uso do tabaco atinge a cifra de 4 milhões de mortes anuais, o que corresponde a mais de 10 mil mortes/ dia. Se mantidas as tendências atuais, esses números aumentarão para 8,4 milhões de mortes/anuais por volta do ano 2020 (INCA, 2006).

Em 2001, o CP foi responsável por mais de 1 milhão de mortes em todo o mundo, com aumento global de 0,5% ao ano. Nos EUA, em 2003, foram diagnosticados 170.000 casos novos, com expectativa de 160.000 mortes, superior à soma de óbitos por carcinoma de mama, cólon e próstata. A sobrevivência em 5 anos nos países desenvolvidos é de aproximadamente 13%, sendo esta imutável por várias décadas.

No Brasil, segundo a estimativa de incidência de câncer do INCA, o CP atingiu 27.170 brasileiros, dentre os quais 17.850 homens e 9.320 mulheres em 2006 (INCA 2006).

2- Aspectos clínicos

A grande maioria dos pacientes com sintomas decorrentes do CP apresenta doença avançada ao diagnóstico e casos descobertos na fase inicial, geralmente são decorrentes de achados radiológicos. A faixa etária mais frequentemente acometida está entre 55 e 65 anos de idade, sendo raro antes dos 40 anos (Younes, 2006).

Os sinais e sintomas do CP podem advir do crescimento local, do acometimento de estruturas adjacentes, das metástases e de síndromes paraneoplásicas (Zambon et al., 2006).

Quanto à localização, os tumores podem ser centrais ou periféricos. Os centrais são aqueles localizados em grandes brônquios e que podem ser visualizados pela broncoscopia, manifestado por tosse, escarro hemoptóico e dispnéia. Em relação aos tumores periféricos, quando sintomáticos, a dor torácica é sua manifestação mais comum. Em relação à extensão tumoral para estruturas adjacentes as mais comuns são o derrame pleural, disfagia, rouquidão, compressão da veia cava superior, paralisia diafragmática e acometimento do coração (Zambon et al., 2006).

Os sítios mais frequentes de metástases são: sistema nervoso central, fígado, ossos, supra-renais e pulmão contra-lateral. O principal sintoma decorrente do comprometimento ósseo é a dor. As metástases cerebrais são mais comuns nos adenocarcinoma e apresentam extensa gama de manifestações neurológicas (Younes, 2006; Zambon et al., 2006).

3- Etiologia

Cerca de 80% dos cânceres estão relacionados a fatores externos (Hatagima, 2002), mas no CP, em 90% dos casos há história de exposição direta ao tabaco, tendo os fatores genéticos um papel importante no mecanismo de aparecimento desta neoplasia, seja por alterações de genes relacionados com a biometabolização de carcinógenos ou genes relacionados com a diferenciação celular e supressão de tumores. O que parece claro, é que o aparecimento do CP se deve a múltiplos fatores externos e genéticos e que envolvem muitos genes, o que, em parte, pode explicar a dificuldade de desenvolvimento de terapêuticas mais efetivas, quando se compara com outras neoplasias (Zambon et al.,2006).

3.1- Fatores Externos

O tabaco contém muitos elementos com poder carcinogênicos, sendo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, o antraceno e o benzopireno, os representantes mais importantes na indução da carcinogênese.

O asbesto é outro agente etiológico importante, tendo um papel de destaque na potencialização do tabaco. Outros fatores relacionados são agentes químicos como o arsênico, berílio, cromo, radônio, níquel, cádmio e cloreto de vinila (INCA, 2006).

3.2- Fatores Genéticos

A susceptibilidade individual ao câncer pode resultar em vários fatores relacionados ao metabolismo de xenobióticos, reparo de DNA, expressão de genes supressores de tumores, protooncogenes e estado nutricional (Hatagima, 2002).

O metabolismo é o principal mecanismo para manter a homeostasia durante a exposição dos organismos a xenobióticos. O equilíbrio das taxas de absorção e eliminação dos xenobióticos tem um papel importante na prevenção de danos ao DNA, provocados por carcinógenos químicos (Hatagima, 2002).

Sendo assim, a habilidade em metabolizar e eliminar xenobióticos podem ser considerados uma das primeiras linhas de defesa dos organismos. Variações no metabolismo individual estão relacionadas aos polimorfismos enzimáticos, envolvidos na ativação e detoxificação de carcinógenos químicos (Hatagima, 2002). Polimorfismos são alterações na sequência do DNA que estão presentes em pelo menos 1% da população normal (sem doenças correlacionadas ao gene polimórfico). Estes polimorfismos manifestam-se, na maioria das vezes, sob forma de trocas de nucleotídeo simples na região codificadora do gene, em alguns de seus íntrons, ou ainda nas regiões flangeadoras do gene, produzindo formas diferentes de uma mesma enzima, levando a variação na sua cinética, ou seja, alteram a sua capacidade e/ou velocidade de ativar, ou inativar um composto químico (Pinto, 2007).

Os polimorfismos genéticos são considerados fatores internos de baixo risco, pois a presença dos polimorfismos por si só não é capaz de gerar câncer. A formação do tumor depende da interação entre genes e ambiente. Os polimorfismos podem aumentar ou diminuir a susceptibilidade de uma pessoa ao câncer, mas é a exposição ao fator de risco ambiental que desencadeia o processo, segundo Hatagima (2005)¹

O metabolismo xenobiótico possui dois tipos de enzimas: o metabolismo oxidativo mediado ou de fase I, representadas pelo gene polimórfico CYP, e as enzimas conjugadas ou de fase II, representadas pelos genes polimórficos GSTs. Muitos compostos são convertidos a metabólitos altamente reativos pelas enzimas oxidativas da Fase I que são, principalmente, enzimas da família do citocromo P450 (CYP). Como exemplo, a conversão do benzopireno em epóxido de benzopireno, através da introdução de uma molécula de oxigênio.

¹ <http://www.saude.ribeiraopreto.sp.gov.br/ssauade/noticias/2005/0501/I16indice.htm>

Em contraponto, as reações da fase II envolvem a conjugação com um substrato endógeno (glutathiona, sulfato, glicose, acetato) através das glutathionas S-transferase (GSTs), UDP- glucoroniltransferases e N-acetiltransferases (NATs), que agem então como enzimas inativadoras dos produtos da Fase I, tornando- os mais hidrófilos e passíveis de excreção (Nebert, 1991; Persson et al., 1995).

Nas últimas décadas, um grande número de estudos tem demonstrado, embora nem todos os resultados estejam de acordo, que o polimorfismo genético de certas enzimas ativadoras de carcinógenos, como o citocromo P450 (CYP) e as enzimas metabolizadoras de carcinógenos, como a glutathiona S-transferase (GSTs) podem modificar o risco para o CP relacionado ao tabaco devido às mudanças na atividade enzimática (Gonzalez, 1997; Houlston, 1999; Bartsch et al., 2000; Larsen et al., 2006).

3.2.1-Gene polimórfico *CYP1A1* (fase I do metabolismo xenobiótico)

O citocromo humano P450 (CYP) se localiza no retículo endoplasmático e na membrana mitocondrial (Buckpitt e Cruskshank, 1997).

A citocromo P-450 (CYP) é uma família de enzimas que catalisa numerosas reações, incluindo o metabolismo de ácidos graxos, biotransformação xenobiótica, além da síntese e metabolismo de substratos endógenos (Gonzalez, 1988; Juchau, 1990; Ryan e Levin, 1990, Ioannides, 1996). As várias isoformas de CYP envolvidas com a biotransformação xenobiótica e metabolismo de drogas estão agrupados nas subfamílias CYP1, CYP2 e CYP3 (Oinonen e Lindros, 1998).

As principais isoformas envolvidas na ativação de carcinógenos ambientais são as CYP1A1 que ativam hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, presentes na fumaça do cigarro.

O gene *CYP1A1* está localizado no cromossomo 15, banda 15q22-24. A primeira variação detectada, chamada *CYP1A1m1* ou *CYP1A1*2A*, foi a transição T para C, na região 3' flanqueadora do gene *CYP1A1*, exon 7 (Fig. 1), criando um sítio de clivagem

para a enzima *MspI* (Bale et al, 1987; Spurr et al, 1987, Kawajiri et al., 1990). O genótipo variante no exon 7 está associado com o aumento da indução e ativação da enzima CYP1A1 (Kawajiri et al., 1990; Crofts et al., 1994). A presença da proteína variante CYP1A1 pode resultar no aumento da formação de metabólitos carcinogênicos devido à hiper-atividade da enzima de fase I (Sreeja et al., 2005).

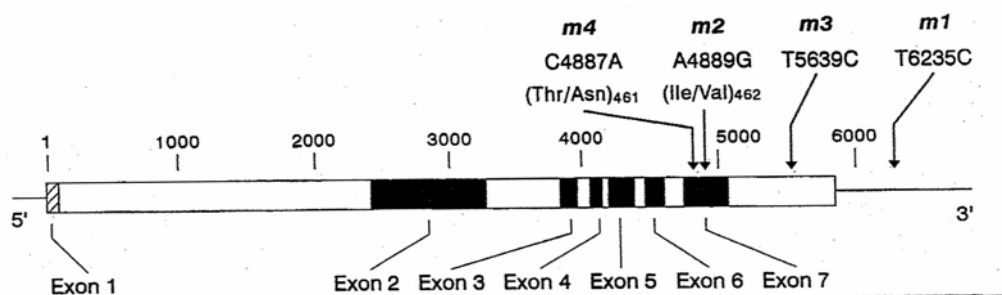


Figura 1- Localização atualmente conhecida das variações do gene *CYP1A1* em humanos.

Os números das variantes estão em ordem cronológica de descobrimento. Variantes m1 e m3 ganham um novo sítio de clivagem *MspI*, m2 tem um sítio de clivagem para *BsrDI* e m4 pode ser detectada pela digestão com *BsaI* (Cascorbi et al., 1996).

A variação homozigótica no gene *CYP1A1**2A foi observada por estar representada em pacientes Japoneses com CP (Nakachi et al., 1991). Estudos em Caucasianos não confirmam este achado (Tefre et al., 1991; Hamada et al., 1995), talvez devido à baixa frequência do genótipo homozigoto variante (7,3%) (Drakoulis et al., 1994) comparada com os 33,2% nos Japoneses (Nakachi et al., 1991).

O genótipo *CYP1A1* variante com *GSTM1/T1* nulos estiveram associados com o aumento do risco para CP (Hayashi et al., 1991). Este mesmo estudo de Hayashi relatou, mais tarde, um aumento de 5,8 vezes do risco para o CP em indivíduos com *CYP1A1* variante e *GSTM1* nulo (genótipos combinados). Sobti et al, 2004, em um estudo no norte da Índia, reportaram duas vezes mais o risco elevado para indivíduos com CP e genótipo variante *CYP1A1* e *GSTM1* nulo.

3.2.2- Genes polimórficos *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B* (fase II do metabolismo xenobiótico)

GSTs são proteínas diméricas codificadas por uma família de genes distintos com limitada homologia estrutural. Seis classes de genes codificadores destas proteínas foram identificadas em humanos: alfa, mu, pi, sigma, theta e ômega (Mannervik et al., 1985; Meyer et al., 1991).

O papel dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* no CP, tem sido muito estudado, principalmente se o polimorfismo altera a atividade de certos xenobióticos metabolizados por enzimas ligadas a estes genes, aumentando a chance do aparecimento desta neoplasia, mas os resultados são conflitantes na literatura conforme a recente revisão (Ye et al., 2006).

O gene *GSTM1*, da classe mu, compreende 5,9 Kb de DNA genômico, contém oito exons e está localizado no braço curto do cromossomo 1, na região 1p13. Está envolvido na detoxificação dos carcinógenos relacionados ao tabaco, como os epóxidos e os metabólitos hidroxilados do benzopireno (Ketterer et al., 1992)

Indivíduo homozigoto nulo para *GSTM1* pode ter um aumento no risco de desenvolver vários tipos de doenças neoplásicas, incluindo pulmão, cólon, pele, mama e estômago (Harada et al. 1987; Zhong et al., 1993; Hayes e Pulford, 1995; Raunio et al., 1995; Ford et al., 2000; Johns e Houlton, 2000).

De acordo com Kihara et al. (1994), o desenvolvimento do CP depende do hábito tabágico e do genótipo nulo para *GSTM1*, que é um dos fatores genéticos envolvidos na resposta individual para o desenvolvimento do câncer.

Zhong et al. (1991) e Hirvonen et al. (1993), usando métodos para genotipagem, mostraram que genótipos nulos foram significativamente mais comuns em pacientes com CP do que em controles.

Diferentes grupos étnicos podem mostrar a presença ou a ausência do gene *GSTM1*, os quais podem influenciar a eficiência e interpretação dos estudos epidemiológicos (Lin e Kadlubar, 1994).

Em três estudos brasileiros a frequência da população-controle para *GSTM1* nulo foi 33%, 41,2% e 36,9% nos estudos de D'Arce e Colus (2000), Cabral et al. (1999) e Arruda et al.(2001), respectivamente. Nos estudos de Matsuzoe et al. (2001) não houve a correlação entre o genótipo *GSTM1* nulo em pacientes fumantes, com frequências de 51,3% e 51,2% entre os fumantes habituais e não fumantes, respectivamente.

A elaboração de estudos para determinar a frequência deste gene em uma população é de grande importância na orientação e prevenção do câncer (Kihara et al., 1994).

A deleção do polimorfismo similar a observada para o gene *GSTM1* foi também observada para o gene *GSTT1* (Hayes e Pulford, 1995).

O gene *GSTT1*, da classe theta, compreende 7,6 Kb de DNA genômico, contém cinco exons e está localizado no braço longo do cromossomo 22, na região 22q11 (Webb et al., 1996).

Em humanos, o *GSTT1* está envolvido na detoxificação de várias toxinas de baixo peso molecular como os óxidos etilenos e a butationa, os quais são constituintes do tabaco (Guengerich et al., 1995; Norppa et al., 1995).

Uma revisão feita por Hatagima (2002) observou uma expressão cromossômica com maior significância no *GSTT1* nulo em trabalhadores expostos ao 1,3 butationa. Em fumantes com *GSTT1* nulo houve mais aberrações cromossômicas do que a expressão do gene em não fumantes (El-Zein et al., 1997).

A prevalência de indivíduo *GSTT1* nulo mostrou uma ampla variação entre as diferentes populações étnicas. Em Caucasianos a prevalência foi de 11 a 18% (Rebbeck, 1997).

To Figueras et al. (1997) avaliaram uma possível susceptibilidade para o CP e acharam um leve aumento, mas não significativo, no genótipo *GSTT1* nulo (24%) quando comparado com a população em geral (19,2%) e com grupo de fumantes pesados (22,5%).

No estudo Finlandês de Saarikoski et al. (1998) observaram uma prevalência do *GSTT1* nulo na população-controle 13,3%. Esta frequência foi comparada e observada previamente em outras populações Caucásicas (Rebbeck, 1997; Arruda et al., 2001).

O gene *GSTP1* foi mapeado em uma região do cromossomo 11q13, no qual está localizado um grande número de genes associados ao câncer (Moscow et al., 1988; Board et al., 1989). A transição da adenina para guanina no exon 5, associado com a substituição da isoleucina para valina, no códon 105, leva a uma redução na atividade enzimática (Gresner et al., 2007).

A enzima GSTP1 é codificada por um gene polimórfico *GSTP1*, que é o maior metabolizador dos produtos do benzopireno (Nakajima et al., 1995; Fields et al., 1998).

A *GSTP1* é a isoforma mais abundante no pulmão. Os genótipos na forma variante têm uma menor atividade enzimática. Portanto, é possível que a deficiência ou redução desta atividade enzimática possibilite o aumento à susceptibilidade ao CP (Coles et al., 2000 e Wenzlaff et al., 2005). Adutos é a formação de ligações covalentes entre os carcinógenos e a molécula de DNA, mais especificamente com a base guanina. Tais adutos podem levar a mutação em proto-oncogenes ou genes supressores tumorais e iniciar o processo de carcinogênese (Toniolo et al., 1997).

Os adutos de DNA ocorrem mais frequentemente em indivíduos com *GSTP1* Val do que em indivíduos Ile (Ryberg et al., 1997), em relação a alguns outros epóxidos diol na fumaça do tabaco, incluindo o 5-metilcrisene e benzo(a)fenantrene (Hu et al., 1997; Coles et al., 2000).

A frequência genotípica do polimorfismo *GSTP1* no grupo-controle em um estudo feito em Taiwan em câncer de esôfago foi 63%, 35% e 2% para os genótipos *Ile/Ile*; *Ile/Val* e *Val/Val*, respectivamente (Lee et al., 2000), semelhantes às observadas por outros autores. (Morita et al., 1998 e Watson et al., 1998).

Examinando a associação entre *GSTP1* polimórfico e o CP, não foi demonstrada associação estatisticamente significativa nos estudos de Miller et al. (2002) em uma população Americana. A frequência da população-controle foi de 44%, 46% e 10% para os genótipos *Ile/Ile*, *Ile/Val* e *Val/Val*, respectivamente.

Rossini et al. (2002) estudaram as frequências dos genes polimórficos *GSTP1* em uma população Brasileira saudável, encontrando os seguintes dados: 49,7% (*Ile/Ile*- homozigoto), 38,1% (*Ile/Val* heterozigoto) e 12,2% (*Val/ Val* homozigoto variante).

No estudo de Ryberg et al. em 1997, indivíduos com genótipo variante *Val/Val* tiveram um maior risco de desenvolvimento do CP do que indivíduos com o genótipo *Ile/Ile*..

A presença dos genótipos *GSTM1* nulo e *GSTP1* variante levam a uma redução enzimática na fase II, havendo portanto, um acúmulo de carcinógenos e ao aparecimento de adutos de DNA em pessoas com esses genótipos (Casarett et al.,1996).

Ambos os genes *GSTM1* e *GSTP1* podem catalisar a detoxificação do HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) in vitro, contudo eles podem ser diferentemente expressos em diferentes tecidos (Antila et al., 1993; Awasthi et al., 1994; Hayes e Pulford, 1995). A expressão do *GSTM1* é elevada no fígado, mas a nível pulmonar é baixa. O oposto achado no padrão para o gene *GSTP1*.

O intuito deste estudo é avaliar a possibilidade de selecionar grupos na população com maior risco de desenvolver CP através do estudo de genes envolvidos na metabolização de xenobióticos contidos no tabaco.



OBJETIVOS

1- Objetivo geral

Estudar a frequência dos genótipos dos genes *CYP1A1*2A*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B* nos pacientes com CP e controles, visando a criação de um banco de dados para comparar com outros estudos.

2- Objetivos específicos

- Verificar se os polimorfismos gênicos isolados e combinados determinam uma pré-disposição ao CP.
- Verificar se os polimorfismos gênicos apresentam correlação com a idade, gênero, etnia, tabagismo, histologia e estadio da doença.



CASUÍSTICA E MÉTODO

O comitê de ética da Universidade Estadual de Campinas aprovou este estudo e todos os pacientes assinaram o termo de consentimento.

Foram incluídos neste estudo, sob o número do protocolo nº 620/2004, 168 pacientes com CP não pequenas células (CPNPC) e 32 pacientes com CP pequenas células (CPPC), no período de fevereiro de 2004 a janeiro de 2007. Foram coletadas amostras de sangue periférico dos pacientes do ambulatório e enfermaria de Pneumologia e Cirurgia Torácica (Serviço de Oncopneumologia) da Faculdade de Ciências Médicas/ HC/ (UNICAMP). Os critérios de inclusão foram: ter mais de 50 anos, estar de acordo com o estudo proposto, assinar o termo de consentimento e não ter antecedentes de CP na família. Foram excluídos da casuística os pacientes que apresentaram antecedentes com CP na família, com mais de 85 anos e aqueles que não aceitaram participar do estudo proposto.

O grupo-controle foi formado por 264 doadores de sangue, sem antecedente familiar com CP e foram obtidos no Hemocentro da UNICAMP e no Hospital Estadual de Sumaré.

1- Avaliação Clínica

Os dados relativos à identificação como idade, gênero, etnia e tabagismo foram obtidos através de uma entrevista realizada pela pesquisadora sob supervisão do orientador, após o paciente ter recebido orientações sobre a pesquisa e assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos V e VI). Os dados em relação à etnia do grupo dos pacientes com CP, foram obtidos diretamente com o paciente e questionada até a segunda geração. Os exames laboratoriais necessários ao diagnóstico, à determinação do tipo histológico e estadiamento do tumor foram obtidos dos prontuários de cada paciente de forma prospectiva.

O diagnóstico do CP foi realizado em biópsia ou cortes histológicos de fragmentos do tumor incluídos em parafina e corados com hematoxilina- eosina, bem como algum exame mais específico como a imunohistoquímica para auxiliar no diagnóstico. A classificação histológica foi realizada segundo a classificação de Franklin (2000), e o estadiamento anatômico foi realizado pelo sistema TMN proposto por Mountain (1997), vide anexo VII.

2- Análise molecular dos genes *CYP1A1*2A*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B*

2.1- Extração do DNA a partir dos leucócitos

O sangue periférico dos 200 pacientes com CPNPC e CPPC e 264-controle foram coletados em tubos contendo EDTA. O DNA foi extraído dos linfócitos pela digestão com proteinase K (Miller et al., 1998) e precipitação com cloreto de lítio. Foi usado também um kit para extração de DNA da marca Gentra Systems (Puregene DNA Purification System).

2.2- Identificação dos polimorfismos do gene *CYP1A1*2A*

A PCR para o gene *CYP1A1*2A* foi realizada com 10mM de Tris-HCl, pH 8,4, 1,5mM de MgCl₂, 0,2mM de cada nucleotídeo trifosfato, 10pmol de cada “primer” (observar desenho dos “primers” no Quadro 1), 2µl de DNA genômico e 1,5U Taq Polimerase para um volume final de 50µl. A reação envolveu um passo inicial de desnaturação a 94°C (5min), 35 ciclos a 94°C(0,5min), 63°C (1min), 72°C (1min) e 10 minutos de extensão a 72°C. O tamanho do fragmento foi de 899pb.

A presença ou ausência do polimorfismo *CYP1A1*2A* foi avaliada por meio da digestão enzimática dos fragmentos amplificados. Esta foi realizada com a utilização de uma mistura de 6,25µl do produto da PCR que foi digerido com 25 unidades da enzima *Msp I* (New England Biolabs) a 37° C overnight para a análise do polimorfismo *CYP1A1*2A* (Cascorbi et al., 1996). Os fragmentos foram avaliados em gel de agarose 3%, corados com brometo de etídeo. O fragmento para o alelo selvagem *2A foi de 899 pb, o heterozigoto apresentou fragmentos de 899pb, 693pb e 206pb, e homozigoto variante de 692pb e 206pb (Figura 2).

As frequências do polimorfismo *CYP1A1*2A* foram avaliadas em pacientes e controles. Foram também analisados em pacientes estratificados de acordo com a idade (< 64 anos e ≥ 64 anos), gênero (masculino, feminino), a etnia (Caucasóides, Afro-Brasileiros), tipo histológico (CPNPC e CPPC), tabagismo (fumantes, não fumantes), anos/maço (< 40 anos/maço ou ≥ 40 anos/maço) e estadiamento (I+II e III+IV),

2.3- Identificação dos polimorfismos do gene *GSTM1* e *GSTT1*.

O método multiplex PCR (Chen et al., 1996; Hirvonen et al., 1996) foi usado para detectar a presença ou a ausência dos genes *GSTM1* e *GSTT1*. Este método exige “primers” GST específico na mesma mistura de amplificação e inclui um terceiro iniciador para a β - globina (Saiki et al., 1988), que é amplificado na mesma reação e serve de controle da amostra de DNA (observar desenho dos “primers” no Quadro 1).

O multiplex- PCR foi realizado com a utilização de uma mistura de 10mM de Tris- HCl, pH 8,4, 2,0mM de $MgCl_2$, 50mM de KCl, 0,2 mM de cada nucleotídeo trifosfato, 2 μ l de DNA de cada indivíduo e 25pmol de cada “primer”. A reação compreendeu 35 ciclos de incubação a 95°C(1min), 62°C(1min) e a 72°C (1min), com extensão final de 72°C por 10 minutos. Fragmentos de 273pb, 480pb e 630pb foram obtidos com a amplificação das regiões especificadas para os genes *GSTM1*, *GSTT1* e β - globina, respectivamente. A presença ou a deleção homozigótica dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5%. Os genótipos foram avaliados apenas quando foi identificada uma banda correspondente à amplificação do fragmento do gene da β - globina (Figura 3).

Os pacientes e controles foram distribuídos de acordo com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*. Os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram também analisados em pacientes estratificados de acordo com a idade (< 64 anos e $\geq$ 64 anos), gênero (masculino, feminino), a etnia (Caucasóides, Afro-Brasileiro), tipo histológico (CPNPC e CPPC), tabagismo (fumantes, não fumantes), anos/maço (< 40 anos/maço ou $\geq$ 40 anos/maço) e estadiamento (I+II e III+IV).

2.4- Identificação do polimorfismo do gene *GSTP1*B*.

A análise do alelo *GSTP1*B* foi realizada utilizando 10pmol de cada “primer” (observar o desenho dos “primers” no Quadro 1), 10mM de Tris-HCL, pH 8,4, 1,5mM de $MgCl_2$, 50mM de KCl, 0,2 mM de cada nucleotídeo trifosfato, 2 μ l de DNA genômico de

cada indivíduo e 1,5 unidades de Taq Polimerase (Invitrogen Life Technologies) A reação compreendeu 30 ciclos de incubação a 94°C (30 segundos), 55°C (segundos) e 72°C (30 segundos), com extensão a 72°C por 10 minutos. Resultando em um fragmento de 176pb (Harries et al., 1997).

O produto da PCR foi digerido com cinco unidades da enzima de restrição *Alw26I* (New England Biolabs- Beverly MA) a 55°C por uma hora. A digestão foi observada na eletroforese em gel de agarose 3,5%, corado com brometo de etídeo.

O genótipo homozigoto permaneceu não digerido com um fragmento de 176pb, o heterozigoto (Ile/Val) teve fragmentos de 176, 91 e 85pb, e para o homozigoto variante (Val/Val) obtivemos fragmentos de 91 e 85pb (Figura 4).

As frequências do polimorfismo *GSTP1*B* foram avaliadas em pacientes e controles. Foram também analisados em pacientes estratificados de acordo com a idade (< 64 anos e ≥ 64 anos), gênero (masculino, feminino), a etnia (Caucasóide, Afro-Brasileiros), tipo histológico (CPNPC e CPPC), tabagismo (sim, não), anos/maço (< 40 anos/maço ou ≥ 40 anos/maço) e estadiamento (I+II e III+IV).

Quadro 1- Sequência dos “primers” utilizados (Imprint Genetics Corp), tamanho do fragmento amplificado e temperatura de anelamento utilizados para o rastreamento dos genes *CYP1A1*2A*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B*.

Gene/ Exon	SEQUÊNCIA	Fragmento Amplificado	T.A (°C)
<i>CYP1A1*2A</i> PU7	5'-GGC TGA GCA ATC TGA CCC TA-3'	899pb	63
<i>CYP1A1*2A</i> PD7	5'-TGA GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3'		
<i>GSTM1</i> PU 4 e 5	5'-CTG CCC TAC TTG ATT GAT GGG-3'	273pb	60
<i>GSTM1</i> PD 4 e 5	5'-CTG GAT TGT AGC AGA TCA TGC-3'		
<i>GSTT1</i> PU 4**	5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3'	480pb	60
<i>GSTT1</i> PD 4**	5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'		
β-globina PU3¶	5'-ATA CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC-3'	630pb	60
β-globina PD3¶	5'-GTS TTT TCC CAA GGT TTG AAC TAG CTC-3'		
<i>GSTP1</i> PU5	5'-ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA-3'	176pb	55
<i>GSTP1</i> PD5	5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT-3'		

PU: “Primer Sense”; PD: “Primer anti-sense”; T.A: temperatura de anelamento; **íntron 4 do gene *GSTT1*; ¶ íntrons 2 e 3 do gene da globina beta.

3- Aspectos Éticos

O estudo molecular foi realizado em amostras de sangue periférico, obtidas por ocasião da punção venosa realizada para a coleta de exames necessários ao diagnóstico ou acompanhamento clínico dos pacientes, e de uma única punção venosa em controles.

Os procedimentos foram realizados após a obtenção das cartas de consentimento pós informação, assinadas por pacientes e controles que aceitaram participar do estudo (Anexos V e VI), e após aprovação do Comitê de ética da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (processo nº. 620/2004).

4- Análise Estatística

Os dados foram avaliados através de média, desvio padrão, frequências absolutas (n) e relativas (%).

A associação entre os genes, variáveis de controle e dependentes, foram avaliadas através do teste de Qui-quadrado ou Teste de Fisher, adotando como nível de significância $p < 0,05$.

As determinações dos riscos de ocorrência do CP, a que os pacientes e controles foram submetidos, foram obtidas por meio das razões das chances (ORs) e foram calculadas considerando um intervalo de confiança de 95%.

A OR e as OR ajustadas pelas variáveis de controle, foram obtidas através da regressão logística simples e múltipla respectivamente.

O teste de verificação do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Beiguelman, 1995) foi realizado com o intuito de verificar se houve distribuição preferencial de algum dos genótipos avaliados do gene *CYP1A1*2A* e *GSTP1*B* no grupo de pacientes e controles utilizados no estudo.

O software utilizado foi SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 8.2.



RESULTADOS

1-Aspectos Clínicos

As características clínicas dos 200 pacientes com CP e dos 264 casos-controle, estão apresentadas nos anexos I e II.

A tabela 1 correlaciona os pacientes com CP e casos-controle com a idade, gênero, etnia e tabagismo. Os pacientes apresentaram idade entre 39 e 85 (média $\pm$ DP: 63,9 $\pm$ 9,7 anos; mediana 64 anos). Nos controles, a idade foi de 50 a 79 anos (média $\pm$ DP: 55,4 $\pm$ 5,7; mediana 54 anos). Houve um predomínio do CP no gênero masculino (72% *versus* 28%), também observado no grupo-controle, com 60% dos casos. Em relação à etnia, 79% dos casos com CP foram considerados Caucasoídes, enquanto no grupo-controle, esta porcentagem foi de 81,4%. O hábito tabágico esteve presente em 89,5% dos casos com CP e em 32,6% dos casos- controles.

Tabela 1- Distribuição dos 200 CP e 264 controles de acordo com idade, gênero, etnia e tabagismo.

Variáveis		nº CP	(%)	nº controles (%)		Valor P
Idade	< 64 anos	100	(50,0)	250	(94,7)	< 0,0001
	≥ 64 anos	100	(50,0)	14	(5,3)	
Gênero	Masculino	144	(72,0)	160	(60,6)	0,0106
	Feminino	56	(28,0)	104	(39,4)	
Etnia	Caucasóides	158	(79,0)	215	(81,4)	0,5122
	Afro-Brasileiros	42	(21,0)	49	(18,6)	
Tabagismo	Sim	179	(89,5)	86	(32,6)	< 0,0001
	Não	21	(10,5)	178	(67,4)	

A distribuição dos 200 pacientes com CP, de acordo com o estadiamento, histologia e anos/maço está representada na tabela 2. Os resultados mostram que 66% dos pacientes estavam no estadio mais avançado da doença (III+IV) e a grande maioria (84%) eram CPNPC (epidermóide, adenocarcinoma e grandes células). Em relação à intensidade do tabagismo, 116 (64.8%) dos casos, consumiram mais de 40 anos/maço.

Tabela 2- Distribuição de 200 pacientes com CP de acordo com o estadiamento, histologia e anos/maço.

Variáveis		n	(%)
Estadiamento	I + II	68	(34,0)
	III + IV	132	(66,0)
Histologia	CPNPC	168	(84,0)
	CPPC	32	(16,0)
Anos/Maço	< 40 anos/maço	63	(35,2)
	≥ 40 anos/maço	116	(64,8)

CPNPC: carcinoma pulmonar não pequenas células; CPPC: carcinoma pulmonar pequenas células

2- Análise molecular do gene *CYP1A1*2A*

2.1- Polimorfismos gênicos em CP e controles

As distribuições individualizadas, segundo a genotipagem do gene *CYP1A1*2A* dos 200 pacientes com CP e 264 controles, estão apresentadas nos anexos III e IV.

As amostras de CP e controles, avaliadas para o gene *CYP1A1*2A*, estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,148$, $P=0,76$ e $\chi^2 = 1,124$, $P= 0,79$, respectivamente).

As frequências do polimorfismo *CYP1A1*2A* em CP e controles, estão representadas na tabela 3, bem como a combinação de *CYP1A1*2A* com *GSTs*.

Tabela 3- Frequências dos polimorfismos *CYP1A1**2A e *GSTs* em CP e controles isolados e combinados.

Genótipos	Pacientes		Controles		OR*	Valor de P
	n	(%)	n	(%)	(IC 95%)	
<i>CYP1A1</i>*2A						
CC	11	(5,5)	9	(3,4)	1,39 (0,40-4,84)	0,69
TC	76	(38,0)	94	(35,6)	1,17 (0,70-1,98)	0,99
CC +TC	87	(43,5)	103	(39,0)	0,84 (0,51-1,39)	0,49
TT	113	(56,5)	161	(61,0)	1,00 (referência)	
TC + TT	189	(94,5)	255	(96,9)	1,31 (0,38-4,46)	0,67
CC	11	(5,5)	9	(3,4)	1,00 (referência)	
<i>GSTs</i>						
M1 Nulo	91	(45,5)	127	(48,1)	0,69 (0,42-1,13)	0,14
M1 Presente	109	(54,5)	137	(51,9)	1,00 (referência)	
T1 Nulo	27	(13,5)	34	(12,9)	1,26 (0,61-2,61)	0,54
T1 Presente	173	(86,5)	230	(87,1)	1,00 (referência)	
M1/T1 Nulo	12	(6,0)	13	(4,9)	0,79 (0,27-2,30)	0,83
M1/T1 Presente	94	(47,0)	116	(43,9)	1,00 (referência)	
<i>CYP1A1</i>*2A + <i>GSTs</i>						
CC e M1 nulo	3	(1,5)	3	(1,7)	0,56 (0,07-4,32)	0,61
TC e M1 nulo	38	(19,0)	46	(17,4)	0,91 (0,44-1,92)	0,74
CC+TC e M1 nulo	41	(20,5)	49	(18,6)	0,71 (0,37-1,35)	0,22
TT + TC e M1 nulo	88	(44,0)	124	(46,9)	0,70 (0,43-1,38)	0,38
TT e M1 presente	63	(31,5)	83	(31,4)	1,00 (referência)	
CC e T1 nulo	0		1	(0,4)	0	
TC e T1 nulo	9	(4,5)	8	(3,0)	2,47 (0,66-9,27)	0,98
CC + TC e T1 nulo	9	(4,5)	9	(3,4)	1,00 (0,42-2,41)	0,48
TT + TC e T1 nulo	27	(13,5)	33	(12,5)	1,31 (0,61-2,83)	0,49
TT e T1 presente	95	(47,5)	136	(51,5)	1,00 (referência)	
CC e M1/T1 nulo	0		0		0	
TC e M1/T1 nulo	3	(1,5)	3	(1,1)	2,81 (0,33-23,71)	0,34
CC + TC e M1/T1 nulo	3	(1,05)	3	(1,1)	1,24 (0,58-2,65)	0,73
TT +TC e M1/T1 nulo	12	(6,0)	13	(4,9)	0,83 (0,28-2,46)	0,73
TT e M1/T1 presente	54	(27,0)	68	(25,8)	1,00 (referência)	

n: número de casos; OR: risco de ocorrência; IC: intervalo de confiança; * resultado obtido pelo ajuste do modelo logístico politômico corrigido pela idade, gênero, etnia e fumo. TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências do polimorfismo na forma isolada ou combinada.

O polimorfismo do gene *CYP1A1**2A de alguns pacientes com CP incluídos no estudo estão apresentados na Figura 2.

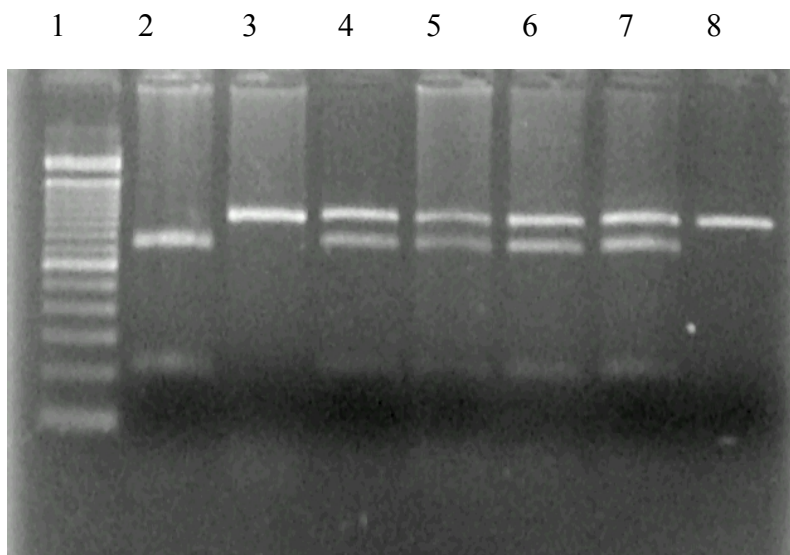


Figura 2-Análise do PCR –RFLP para o gene *CYP1A1**2A. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. A primeira coluna representa o marcador de tamanho do DNA 100pb. Indivíduos com o genótipo selvagem (899pb) estão representados nas colunas 3 e 8. Indivíduos com o genótipo heterozigoto (899, 693 e 206pb) estão apresentados nas colunas 4, 5, 6 e 7. Indivíduos com o genótipo homozigoto variante (693 e 206pb) está apresentada na coluna 2.

2.2-Aspectos clínicos X genótipos

Na tabela 4 estão representadas as análises das frequências dos genes *CYP1A1**2A e *GSTM1* (isolados) em pacientes com CP. Em relação à etnia, encontra-se uma frequência maior do genótipo TT do gene *CYP1A1**2A em pacientes Caucásios do que em Afro-Brasileiros (62,0% versus 35,7%) $P= 0,004$. Ao comparar pacientes Caucásios com controles Caucásios, foram encontradas as mesmas porcentagens (62,0% versus 62,8%). Em relação aos outros dados clínicos não se encontrou nenhuma correlação significativa.

Tabela 4- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTM1* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	CYP1A1*2A				GSTM1			
		TT	TC	CC	Valor P	Presente	Nulo	Valor P	
		n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)		
Idade									
< 64 anos	100	56 (56,0)	39 (39,0)	5 (5,0)	0,9266	56 (56,0)	44 (44,0)	0,6701*	
≥ 64 anos	100	57 (57,0)	37 (37,0)	6 (6,0)		53 (53,0)	47 (47,0)		
Gênero									
Masculino	144	84 (58,3)	51 (35,4)	9 (6,3)	0,4792	78 (54,2)	66 (45,8)	0,8793*	
Feminino	56	29 (51,8)	25 (44,6)	2 (3,6)		31 (55,4)	25 (44,6)		
Etnia									
Caucasóides	158	98 (62,0)†	54 (34,2)	6 (3,8)	0,0042	84 (53,2)	74 (46,8)	0,4620*	
Afro-Brasileira	42	15 (35,7)	22 (52,4)	5 (11,9)		25 (59,5)	17 (40,5)		
Histologia									
CPNPC	168	98 (58,3)	61 (36,3)	9 (5,4)	0,4988	91 (54,2)	77 (45,8)	0,8283*	
CPPC	32	15 (46,9)	15 (46,9)	2 (6,3)		18 (56,3)	14 (43,8)		
Estadiamento									
I + II	68	39 (57,4)	28 (41,2)	1 (1,5)	0,1956	34 (50,0)	34 (50,0)	0,3590*	
III + IV	132	74 (56,1)	48 (36,4)	10 (7,6)		75 (56,8)	57 (43,2)		
Tabagismo									
Sim	179	101 (56,4)	68 (38,0)	10 (5,6)	0,9245	97 (53,6)	84 (46,4)	0,4257*	
Não	21	10 (47,6)	10 (47,6)	1 (4,7)		13 (61,9)	8 (38,1)		
Anos/Maço**									
< 40	63	32 (50,8)	25 (39,7)	6 (9,5)	0,1794	32 (50,8)	31 (49,2)	0,5748*	
≥ 40	116	70 (60,3)	42 (36,2)	4 (3,4)		64 (55,2)	52 (44,8)		

Nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células, CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; † genótipo TT do gene *CYP1A1*2A*, maior frequência em pacientes Caucásóides; TT: homozigoto; TC: heterozigoto; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram;

A tabela 5 mostra a frequência dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTM1* em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas. Quanto à etnia, a combinação do genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* com *GSTM1* presente, foi mais freqüente em Afro-Brasileiros (40,5%) quando comparados aos pacientes Caucasoídes (18,4%), tendo um valor de $P= 0,01$. Ao comparar pacientes Afro-Brasileiros com controles Afro-Brasileiros, observou-se uma diferença (40,5% versus 26,5%), mas sem significância estatística $P= 1,36$. Em relação à histologia, esta combinação dos genótipos, foi mais freqüente nos CPPC com 40,6%, quando comparados a 19,7% dos CPNPC apresentando um valor de $P= 0,02$. Ao comparar CPPC com controles (40,5% versus 20,5%), não observou-se significância estatística (OR=1,455, IC 95% 0,709- 2,98, $P=0,3788$).

Tabela 5- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTM1* em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Polimorfismo <i>CYP1A1</i> *2A e <i>GSTM1</i>						
Variáveis	Nº	TT e Pres	TC/CC e Nulo	TT e Nulo	TC/CC e Pres	
		n (%)	N (%)	n (%)	n (%)	Valor P
Idade						
< 64 anos	100	32 (32,0)	20 (20,0)	24 (24,0)	24 (24,0)	0,97
≥ 64 anos	100	31 (31,0)	21 (21,0)	26 (26,0)	22 (22,0)	
Gênero						
Masculino	144	48 (33,3)	30 (20,8)	36 (25,0)	30 (20,9)	0,65
Feminino	56	15 (26,8)	11 (19,6)	14 (25,0)	16 (28,6)	
Etnia						
Caucasóides	158	55 (34,8)	31 (19,6)	43 (27,2)	29 (18,4)	0,01
Afro-Brasileiros	42	8 (19,0)	10 (23,8)	7 (16,7)	17 (40,5)†	
Histologia						
CPNPC	168	58 (34,5)	40 (23,8)	7 (22,0)	33 (19,7)	0,02
CPPC	32	5 (15,6)	4 (12,5)	12 (37,5)	13 (40,6)§	
Estadiamento						
I + II	68	21 (30,9)	16 (23,5)	18 (26,5)	13 (19,1)	0,74
III + IV	132	42 (31,8)	25 (18,9)	32 (24,2)	33 (25,0)	
Tabagismo						
Sim	179	57 (31,8)	38 (21,2)	44 (24,6)	40 (22,4)	0,82
Não	21	7 (33,3)	3 (14,3)	5 (23,8)	6 (28,6)	
Anos/Maço**						
< 40	63	14 (22,2)	13 (20,6)	18 (28,6)	18 (28,6)	0,20
≥ 40	116	42 (36,2)	24 (20,7)	28 (24,1)	22 (19,0)	

Nº: número de casos; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e *GSTM1* presente, apresentou uma maior frequência em Afro-Brasileiros; § genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e *GSTM1* presente, apresentou uma maior frequência no tipo histológico CPPC; TT: selvagem; TC: heterozigose; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram

A tabela 6 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1**2A e *GSTT1*(isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas. Na análise da tabela não foi observada nenhuma diferença significativa entre as frequências isoladas dos genes com as variáveis clínicas analisadas, com exceção da etnia onde houve um predomínio dos pacientes Caucasoídes ($P= 0,004$) e também aos anos/maço, observou-se a correlação com o genótipo *GSTT1* nulo ($P=0,01$).

Tabela 6- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTT1* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	CYP1A1*2 ^a				Valor P	GSTT1		
		TT	TC	CC	Presente		Nulo	Valor P	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		n (%)		
Idade									
< 64 anos	100	56 (56,0)	39 (39,0)	5 (5,0)	0,9266	85 (85,0)	15 (15,0)	0,5348*	
≥ 64 anos	100	57 (57,0)	37 (37,0)	6 (6,0)		88 (88,0)	12 (12,0)		
Gênero									
Masculino	144	84 (58,3)	51 (35,4)	9 (6,3)	0,4792	123 (85,4)	21 (14,6)	0,4722*	
Feminino	56	29 (51,8)	25 (44,6)	2 (3,6)		50 (86,3)	6 (10,7)		
Etnia									
Caucasóides	158	98 (62,0)†	54 (34,2)	6 (3,8)	0,0042	136 (86,1)	22 (13,9)	0,7336*	
Afro-Brasileiros	42	15 (35,7)	22 (52,4)	5 (11,9)		37 (88,1)	5 (11,9)		
Histologia									
CPNPC	168	98 (58,3)	61 (36,3)	9 (5,4)	0,4988	148 (88,1)	20 (11,9)	0,1304*	
CPPC	32	15 (46,9)	15 (46,9)	2 (6,3)		25 (78,1)	7 (21,9)		
Estadiamento									
I + II	68	39 (57,4)	28 (41,2)	1 (1,5)	0,1956	62 (91,2)	6 (8,8)	0,1648*	
III + IV	132	74 (56,1)	48 (36,4)	10 (7,6)		111 (84,1)	21 (15,9)		
Tabagismo									
Sim	179	101 (56,4)	68 (38,0)	10 (5,6)	0,9245	152 (85,0)	27 (15,0)	0,0821	
Não	21	10 (47,6)	10 (47,6)	1 (4,7)		21 (100,0)	0		
Anos/Maço**									
< 40	63	32 (50,8)	25 (39,7)	6 (9,5)	0,1784	59 (93,7)	4 (6,3)	0,0164	
≥ 40	116	70 (60,3)	42 (36,2)	4 (3,4)		93 (80,2)	23 (19,8)§		

Nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; † genótipo TT do gene *CYP1A1*2A*, maior frequência em pacientes Caucasóides; § *GSTT1* nulo, maior frequência em ≥40 anos/maço; TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram.

A tabela 7 mostra as frequências de forma combinada dos polimorfismos dos genes *CYP1A1**2A e *GSTT1* em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas.

Novamente em relação à etnia, as combinações dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1**2A com *GSTT1* presente, foram mais frequentes em Afro-Brasileiros (54,8%) do que em pacientes Caucásios (34,8%), valor de $P=0,009$. Ao comparar as frequências das combinações acima citada com controles Afro-Brasileiros (54,8% vs 47,0%), foram observadas as mesmas frequências.

Tabela 7- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTT1* em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Polimorfismo <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTT1</i>						
Variáveis	Nº	TT e Pres	TC/CC e Nulo	TT e Nulo	TC/CC e Pres	Valor <i>P</i>
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Idade						
< 64 anos	100	47 (47,0)	6 (6,0)	9 (9,0)	38 (38,0)	0,84
≥ 64 anos	100	48 (48,0)	3 (3,0)	9 (9,0)	40 (40,0)	
Gênero						
Masculino	144	51 (35,4)	12 (8,3)	9 (6,3)	72 (50,0)	0,68
Feminino	56	25 (44,6)	4 (7,2)	2 (3,6)	25 (44,6)	
Etnia						
Caucasóides	158	81 (51,3)	5 (3,2)	17 (10,8)	55 (34,8)	0,009
Afro-Brasileiros	42	14 (33,3)	4 (9,5)	1 (2,4)	23 (54,8)†	
Histologia						
CPNPC	168	84 (50,0)	6 (3,6)	14 (8,3)	64 (38,1)	0,19
CPPC	32	11 (34,4)	3 (9,4)	4 (12,5)	14 (43,8)	
Estadiamento						
I + II	68	36 (52,9)	3 (4,4)	3 (4,4)	26 (38,2)	0,38
III + IV	132	59 (44,7)	6 (4,5)	15 (11,4)	52 (39,4)	
Tabagismo						
Sim	179	84 (46,9)	9 (5,0)	18 (10,0)	68 (37,9)	0,48
Não	21	11 (52,3)	0	0	10(47,6)	
Anos/Maço**						
< 40	63	31 (49,2)	3 (4,8)	1 (1,6)	28 (44,4)	0,02
≥ 40	116	53 (45,7)	6 (5,2)	17 (14,7)§	40 (34,5)	

*Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; † genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e *GSTT1* presente, maior frequência em Afro-Brasileiros; § genótipo *CYP1A1*2A* Selv e *GSTT1* nulo, maior frequência em ≥40 anos/maço; TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram

A frequência da combinação do genótipo TT do gene *CYP1A1**2A e *GSTT1* nulo, foi maior no grupo dos fumantes de ≥ 40 anos/maço (14,7% versus 1,6%) com valor de $P= 0,02$. Os dados anos/maço não foram obtidos para os controles. Em relação a outras variáveis não foram observadas diferenças significativas.

A tabela 8 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1**2A e *GSTM1/T1* (isolados) em pacientes com CP, estratificados segundo os aspectos clínicos. Os resultados apresentados na tabela mostram que não foram observadas diferenças significativas entre as frequências isoladas dos genes *CYP1A1**2A e *GSTM1/T1* em pacientes com CP.

Tabela 8- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTM1/T1* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	<i>CYP1A1*2A</i>			Valor P	<i>GSTM1/T1</i>			Valor P
		TT	TC	CC		Presente	Um Nulo	Nulos	
		n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	n (%)	
Idade									
< 64 anos	100	56 (56,0)	39 (39,0)	5 (5,0)	0,9266	48 (48,0)	45 (45,0)	7 (7,0)	0,7611*
≥ 64 anos	100	57 (57,0)	37 (37,0)	6 (6,0)		46 (46,0)	49 (49,0)	5 (5,0)	
Gênero									
Masculino	144	84 (58,3)	51 (35,4)	9 (6,3)	0,4792	68 (47,2)	65 (45,1)	11 (7,6)	0,3010
Feminino	56	29 (51,8)	25 (44,6)	2 (3,6)		26 (46,4)	29 (51,8)	1 (1,8)	
Etnia									
Caucasóides	158	98 (62,0)†	54 (34,2)	6 (3,8)	0,0042	73 (46,2)	74 (46,8)	11 (7,0)	0,6974
Afro-Brasileiros	42	15 (35,7)	22 (52,4)	5 (11,9)		21 (50,0)	20 (47,6)	1 (2,4)	
Histologia									
CPNPC	168	98 (58,3)	61 (36,3)	9 (5,4)	0,4988	80 (47,6)	79 (47,0)	9 (5,4)	0,6320
CPPC	32	15 (46,9)	15 (46,9)	2 (6,3)		14 (43,8)	15 (46,9)	3 (9,4)	
Estadiamento									
I + II	68	39 (57,4)	28 (41,2)	1 (1,5)	0,1956	32 (47,1)	32 (47,1)	4 (5,9)	1,0000
III + IV	132	74 (56,1)	48 (36,4)	10 (7,6)		62 (47,0)	62 (47,0)	8 (6,1)	
Tabagismo									
Sim	179	101 (56,4)	68 (38,0)	10 (5,6)	0,9245	81 (45,2)	86 (48,0)	12 (6,6)	0,3432
Não	21	10 (47,6)	10 (47,6)	1 (4,7)		13 (61,9)	8(38,1)	0	
Anos/Maço**									
< 40	63	32 (50,8)	25 (39,7)	6 (9,5)	0,1794	28 (44,4)	35 (55,6)	0	0,0781
≥ 40	116	70 (60,3)	42 (36,2)	4 (3,4)		53 (45,7)	51 (44,0)	12 (10,3)	

nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo TT do gene *CYP1A1*2A*, maior frequência em Caucásios; TT: selvagem; TC: heterozigose; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram

A tabela 9 mostra resultados de dois genes de forma combinada e distribuída pelos dados clínicos. Os resultados mostram que não foram observadas diferenças significativas nas frequências dos genótipos combinados em relação à idade, gênero, histologia, estadiamento, tabagismo e anos/maço.

Tabela 9- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTM1/T1* combinados em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	Polimorfismo <i>CYP1A1*2A</i> e <i>GSTM1/T1</i>						Valor <i>P</i>	
		TT e Pres	TC/CC e	TC/CC e	TC/CC e	TT e	Um		TT e
			Pres	Um Nulo	Nulos	Nulo	Nulos		
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		n (%)
Idade									
< 64 anos	100	27 (27,0)	21 (21,0)	20 (20,0)	3 (3,0)	25 (25,0)	4 (4,0)	0,68	
≥ 64 anos	100	27 (27,0)	19 (19,0)	24 (24,0)	0	25 (25,0)	5 (5,0)		
Gênero									
Masculino	144	12 (21,4)	14 (25,0)	12 (21,4)	1 (1,8)	17 (30,4)	0	0,22	
Feminino	56	42 (29,2)	26 (18,1)	32 (22,2)	2 (1,4)	33 (22,9)	9 (6,3)		
Etnia									
Caucasóides	158	47 (29,7)	26 (16,5)	32 (20,3)	2 (1,3)	42 (26,6)	9 (5,7)	0,03	
Afro-Brasileiros	42	7 (16,7)	14 (33,3)†	12 (28,6)	1 (2,4)	8 (19,0)	0		
Histologia									
CPNPC	168	50 (29,8)	30 (17,9)	37 (22,0)	3 (1,8)	42 (25,0)	6 (3,6)	0,13	
CPPC	32	4 (12,5)	10 (31,3)	7 (21,9)	0	8 (25,0)	3 (9,4)		
Estadiamento									
I + II	68	21 (30,9)	11 (16,2)	17 (25,0)	1 (1,5)	15 (22,1)	3 (4,4)	0,83	
III + IV	132	33 (25,0)	29 (22,0)	27 (20,5)	2 (1,5)	35 (26,5)	6 (4,5)		
Tabagismo									
Sim	179	47 (26,2)	34 (19,0)	40 (22,3)	0	46 (27,5)	9 (5,0)	0,76	
Não	21	7 (31,6)	6 (31,6)	4 (15,8)	3 (1,7)	4 (21,1)	0		
Anos/Maço**									
< 40	63	13 (20,6)	15 (23,8)	16 (25,4)	0	19 (30,2)	0	0,06	
≥ 40	116	34 (29,3)	19 (16,4)	24 (20,7)	3 (2,6)	27 (23,3)	9 (7,8)		

Nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e *GSTM1/T1* ambos presentes, maior frequência em Afro-brasileiros; TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram;

As combinações dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1*2A* com *GSTM1/T1* ambos presentes foram mais frequentes em Afro-Brasileiros (33,3%) que em pacientes Caucásicos (16,5%), valor de $P=0,03$. A frequência dos pacientes Afro-Brasileiros foi um pouco maior do que a observada em controles Afro-Brasileiros (33,3% vs 20,4%), mas sem significância estatística $P=0,09$.

A tabela 10 mostra as frequências dos polimorfismos *CYP1A1*2A* e *GSTP1*B* em CP e controles e suas combinações e não mostrou nenhum resultado significativo em suas correlações.

Tabela 10- Frequências dos polimorfismos *CYP1A1*2A* e *GSTP1*B* em CP e controles isolados e combinados:

Genótipos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR* (IC 95%)	Valor de P
<i>CYP1A1*2^a</i>				
CC	11 (5,5)	9 (3,4)	1,39 (0,40-4,84)	0,69
TC	76 (38,0)	94 (35,6)	1,17 (0,70-1,98)	0,99
CC + TC	87 (43,5)	103 (39,0)	0,84 (0,51-1,39)	0,49
TT	113 (56,5)	161 (61,0)	1,00 (referência)	
TC/TT	189 (94,5)	255 (96,9)	1,31 (0,38-4,46)	0,67
CC	11 (5,5)	9 (3,4)	1,00 (referência)	
<i>GSTP1*B</i>				
Val/Val	25 (12,5)	30 (11,4)	1,35 (0,54-3,41)	0,35
Ile/Val	93 (46,5)	129 (48,9)	0,78 (0,47-1,32)	0,18
Val/Val+Ile/Val	118 (59,0)	159 (60,2)	0,95 (0,58-1,56)	0,83
Ile/Ile	82 (41,0)	105 (39,8)	1,00 (referência)	
Ile/Val +Ile/Ile	175 (87,5)	234 (88,6)	0,94 (0,44-2,00)	0,86
Val/Val	25 (12,5)	30 (11,4)	1,00 (referência)	
<i>CYP1A1*2A + GSTP1*B</i>				
CC e Val/Val	1 (0,5)	1 (0,4)	3,93 (0,11-140,35)	0,43
CC e Ile/Val	3 (1,5)	4 (1,5)	0,44 (0,03-6,53)	0,37
TC e Val/Val	9 (4,5)	9 (3,4)	1,40 (0,32-6,15)	0,85
TC e Ile/Val	34 (17,0)	46 (17,4)	1,12 (0,47-2,69)	0,87
CC + TC e Val/Val+I/V	47 (23,5)	60 (22,7)	1,28 (0,67-2,46)	0,92
CC + TC e Ile/Ile	40 (20,0)	43 (16,3)	1,93 (0,88-4,23)	0,10
CC + TC e Ile/Ile+Ile/Val	77 (38,5)	93 (35,2)	1,38 (0,71-2,69)	0,34
TT e Ile/Ile	42 (21,0)	62 (23,5)	1,00 (referência)	
TT e Val/Val+Ile/Val	71 (35,5)	99 (37,5)	0,61 (0,13-2,89)	0,53
TT +TC e Val/Val+Ile/Val	114 (57,0)	154 (58,3)	0,59 (0,12-2,91)	0,51
TT +TC e Ile/Ile+Ile/Val	165 (8,5)	226 (85,6)	0,56 (0,12-2,64)	0,46
CC e Ile/Ile	7 (3,5)	4 (1,5)	1,00 (referência)	

n: número de casos; OR: risco de ocorrência; IC: intervalo de confiança; * resultado obtido pelo ajuste do modelo logístico politômico corrigido pela idade, gênero, etnia e fumo. TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; Ile/Ile: selvagem para o gene *GSTP1*; Ile/Val: heterozigoto *GSTP1*; Val/Val: variante *GSTP1*

A tabela 11 mostra as frequências isoladas dos genes *CYP1A1**2A e *GSTP1**B e suas associações com os dados clínicos e que não foram observadas diferenças significativas na correlação dos dados.

Tabela 11- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1**2A e *GSTP1**B (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	CYP1A1*2A				Valor P	GSTP1*B			Valor P
		TT	TC	CC	Ile/Ile		Ile/Val	Val/Val		
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)		
Idade										
< 64 anos	100	56 (56,0)	39 (39,0)	5 (5,0)	0,9266	47 (47,0)	42 (42,0)	11 (11,0)		0,2246*
≥ 64 anos	100	57 (57,0)	37 (37,0)	6 (6,0)		35 (35,0)	51 (51,0)	14 (14,0)		
Gênero										
Masculino	144	84 (58,3)	51 (35,4)	9 (6,3)	0,4792	56 (38,9)	71 (49,3)	17 (11,8)		0,4431*
Feminino	56	29 (51,8)	25 (44,6)	2 (3,6)		26 (46,4)	22 (39,3)	8 (14,3)		
Etnia										
Caucasóides	158	98 (62,0)†	54 (34,2)	6 (3,8)	0,0042	69 (43,7)	68 (43,0)	21 (13,3)		0,1916
Afro-Brasileiros	42	15 (35,7)	22 (52,4)	5 (11,9)		13 (31,0)	25 (59,5)	4 (9,5)		
Histologia										
CPNPC	168	98 (58,3)	61 (36,3)	9 (5,4)	0,4988	71 (42,3)	75 (44,6)	22 (13,1)		0,5650
CPPC	32	15 (46,9)	15 (46,9)	2 (6,3)		11 (34,4)	18 (56,3)	3 (9,4)		
Estadiamento										
I + II	68	39 (57,4)	28 (41,2)	1 (1,5)	0,1956	24 (35,3)	34 (50,0)	10 (14,7)		0,2892
III + IV	132	74 (56,1)	48 (36,4)	10 (7,6)		58 (43,9)	59 (4,7)	3 (2,3)		
Tabagismo										
Sim	179	101 (56,4)	68 (38,0)	10 (5,6)	0,9245	74 (41,4)	82 (45,9)	23 (12,7)		0,9397
Não	21	10 (47,6)	10 (47,6)	1 (4,7)		8 (38,0)	11 (52,4)	2 (9,5)		
Anos/Maço**										
< 40	63	32 (50,8)	25 (39,7)	6 (9,5)	0,1794	29 (46,0)	26 (41,3)	8 (12,7)		0,5840*
≥ 40	116	70 (60,3)	42 (36,2)	4 (3,4)		45 (38,8)	57 (49,1)	14 (12,1)		

Nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo TT do gene *CYP1A1**2A, maior frequência em pacientes Caucasóides; TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; Ile/Ile: selvagem para o gene *GSTP1**B; Ile/Val: heterozigoto *GSTP1*; Val/Val: variante *GSTP1*; ** 21 pacientes nunca fumaram

A tabela 12 mostra que não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos combinados *CYP1A1*2A* e *GSTP1*B* em relação à idade, gênero, histologia, estadiamento, tabagismo e anos/maço.

As combinações dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e dos genótipos I/V + V/V do gene *GSTP1*B*, foram mais frequentes em Afro-Brasileiros (40,5%) do que em pacientes Caucásios (19,0%), valor de $P=0,005$. A frequência do genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e do genótipo I/V + V/V do gene *GSTP1*B* foi igual à observada em controles Afro-Brasileiros (40,5% vs 38,8%).

Tabela 12- Frequências dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*2A* e *GSTP1*B* combinados em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Polimorfismo <i>CYP1A1*2^a</i> e <i>GSTP1*B</i>						
Variáveis	Nº	TT e I/I	TC/CC e I/I	TT e I/V+V/V	TC/CC e I/V+V/V	Valor <i>P</i>
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Idade						
< 64 anos	100	24 (24,0)	23 (23,0)	32 (32,0)	21 (21,0)	0,39
≥ 64 anos	100	18 (18,0)	17 (17,0)	39 (39,0)	26 (26,0)	
Gênero						
Masculino	144	30 (20,8)	26 (18,1)	17 (30,4)	13 (23,2)	0,66
Feminino	56	12 (21,4)	14 (25,0)	54 (37,5)	34 (23,6)	
Etnia						
Caucasóides	158	39 (24,7)	30 (19,0)	59 (37,3)	30 (19,0)	0,005
Afro-Brasileiros	42	3 (7,1)	10 (23,8)	12 (28,6)	17 (40,5)†	
Histologia						
CPNPC	168	37 (22,0)	34 (20,2)	61 (36,3)	36 (21,4)	0,44
CPPC	32	5 (15,6)	6 (18,8)	10 (31,3)	11 (34,4)	
Estadiamento						
I + II	68	12 (17,6)	12 (17,6)	27 (39,7)	17 (25,0)	0,69
III + IV	132	30 (22,7)	28 (21,2)	44 (33,3)	30 (22,7)	
Tabagismo						
Sim	179	40 (22,3)	34 (18,8)	61 (34,0)	44 (24,3)	0,13
Não	21	2 (9,5)	6 (28,6)	10 (47,6)	3 (14,3)	
Anos/Maço**						
< 40	63	14 (22,2)	15 (23,8)	18 (28,6)	16 (25,4)	0,48
≥ 40	116	27 (23,3)	18 (15,5)	43 (37,1)	28 (24,1)	

Nº: número de casos; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e genótipo I/V+V/V do gene *GSTP1*B*, apresentaram maior frequência em Afro-Brasileiros; TT: selvagem; TC: heterozigoto; CC: variante; ** 21 pacientes nunca fumaram;

3-Análise Molecular dos genes *GSTM1* , *GSTT1* e *GSTP1*B*

3.1- Polimorfismos gênicos em pacientes e controles.

As distribuições individualizadas dos 200 pacientes com CP e 264 controles, de acordo com os polimorfismos gênicos *GSTM1* e *GSTT1*, estão apresentadas nos anexos II e IV.

As amostras de CP e controles, avaliadas para o gene *GSTP1*, estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0,030$, $P=0,64$ e $\chi^2 = 1,050$, $P= 0,64$, respectivamente).

As frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B* em pacientes CP e controles estão apresentadas na tabela 13.

Tabela 13- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B* (isolados e combinados) em pacientes com câncer de pulmão e controles.

Genótipos	Pacientes		Controles		OR*	Valor de P	
	n	(%)	n	(%)			
(IC 95%)							
GSTs							
M1 nulo	91	(45,5)	127	(48,1)	0,69	(0,42-1,13)	0,14
M1 Presente	109	(54,5)	137	(51,9)	1,00	(referência)	
T1 Nulo	27	(13,5)	34	(12,9)	1,26	(0,61-2,61)	0,54
T1 Presente	173	(86,5)	230	(87,1)	1,00	(referência)	
M1/T1 Nulo	12	(6,0)	13	(4,9)	0,79	(0,27-2,30)	0,83
M1/T1 Presente	19	(9,5)	25	(9,5)	1,00	(referência)	
GSTPI*B							
Val/Val	25	(12,5)	30	(11,4)	1,03	(0,46-2,30)	0,87
Ile/Val	93	(46,5)	129	(48,9)	0,93	(0,55-1,57)	0,75
Val/Val + Ile/Val	118	(59,0)	159	(60,2)	0,95	(0,58-1,56)	0,83
Ile/Ile	82	(41,0)	105	(39,8)	1,00	(referência)	
Ile/Ile + Ile/Val	175	(87,5)	234	(88,6)	0,94	(0,69-1,28)	0,77
Val/Val	25	(12,5)	30	(11,4)	1,00	(referência)	
GSTs + GSTPI*B							
M1 nulo e Val/Val	12	(6,0)	11	(4,2)	1,15	(0,30-4,38)	0,47
M1 nulo e Ile/Val	44	(22,0)	61	(23,1)	0,52	(0,23-1,17)	0,11
M1 nulo e Val/Val+Ile/Val	56	(28,0)	72	(27,3)	0,63	(0,31-1,29)	0,65
M1 presente e Ile/Ile	47	(23,5)	50	(18,9)	1,00	(referência)	
T1 nulo e Val/Val	4	(2,0)	7	(2,7)	0,72	(0,14-3,74)	0,60
T1 nulo e Ile/Val	12	(6,0)	15	(5,7)	1,29	(0,40-4,18)	0,55
T1 nulo e Val/Val+Ile/Val	16	(8,0)	22	(8,3)	0,78	(0,52-1,18)	0,27
T1 nulo e Ile/Ile+Ile/Val	23	(11,5)	27	(10,2)	1,51	(0,52-3,67)	0,36
T1 presente e Ile/Ile	71	(35,5)	93	(35,2)	1,00	(referência)	
M1/T1 nulo e Val/Val	1	(0,5)	3	(1,1)	0,60	(0,04-9,29)	0,71
M1/T1 nulo e Ile/Val	7	(3,5)	4	(1,5)	1,02	(0,17-6,10)	0,80
M1/T1 nulo e Val/Val+Ile/Val	8	(4,0)	7	(2,7)	0,86	(0,21-3,61)	0,82
M1/T1 nulo e Ile/Ile+Ile/Val	11	(5,5)	10	(3,8)	0,76	(0,20-2,82)	0,68
M1/T1 presente e Ile/Ile	40	(20,0)	44	(16,7)	1,00	(referência)	

n: número de casos; OR: risco de ocorrência; IC: intervalo de confiança; * resultado obtido pelo ajuste do modelo logístico politômico corrigido pela idade, gênero, etnia e fumo, para cada variável

Observamos frequências similares do *GSTM1* e *GSTT1* nulos em CP e controles. Risco similar da doença foi observado em indivíduos com genótipo nulo para *GSTM1* e *GSTT1*.

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências do polimorfismo *GSTP1**B em CP e controles (tabela 13).

Os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* de alguns pacientes com CP incluídos no estudo estão apresentados na Figura 3.

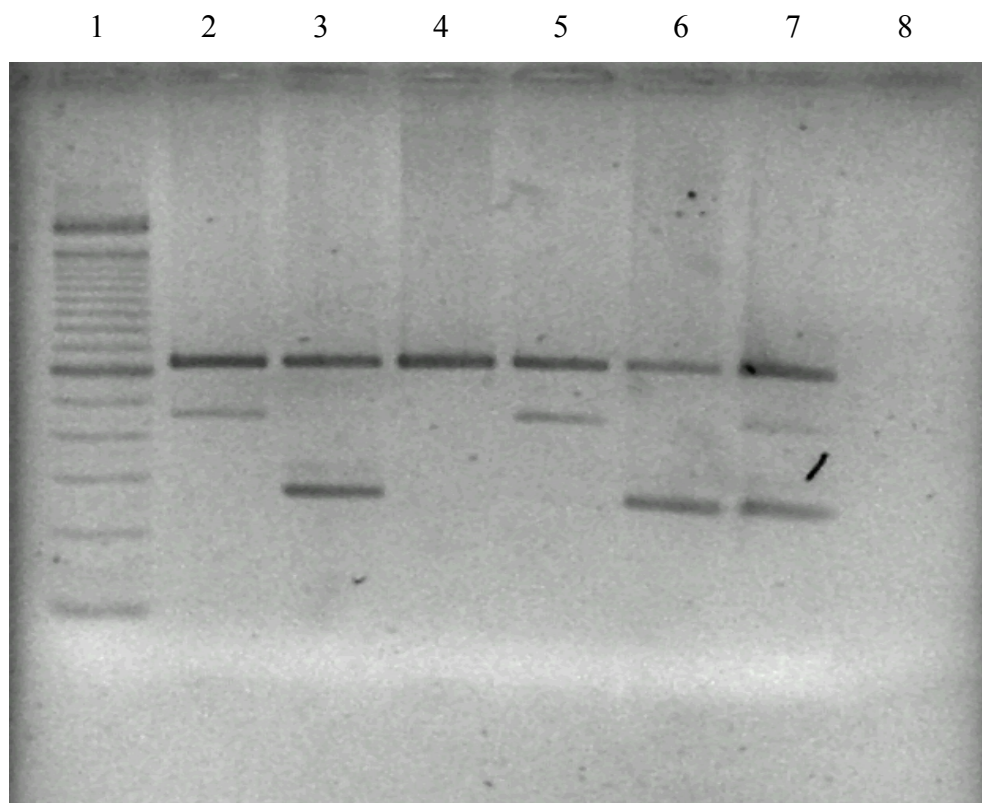


Figura 3- PCR Multiplex para detecção dos alelos homozigotos nulos da glutathione S-transferase mu1 (*GSTM1*) e teta1 (*GSTT1*). Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo, mostrando os produtos da PCR de 273pb e 480pb correspondendo à presença normal do alelo para os genes *GSTM1* e *GSTT1*, respectivamente. O fragmento de 630pb da PCR é do gene da β - globina humana, o qual serve como controle para as amostras de DNA. A primeira coluna representa o marcador de tamanho DNA de 100pb (Invitrogen). As colunas 2 e 5, mostram deleções homozigóticas para o alelo *GSTM1*. As colunas 3 e 6 representam deleções homozigóticas para o alelo *GSTT1*. A coluna 4 representa deleções homozigóticas nos alelos *GSTT1* e *GSTM1*. A coluna 7 mostra um indivíduo com alelo *GSTT1* e *GSTM1* normal. A coluna 8 representa o controle negativo da reação.

O polimorfismo do gene *GSTP1*B* de alguns pacientes com CP incluídos no estudo estão apresentados na Figura 4.

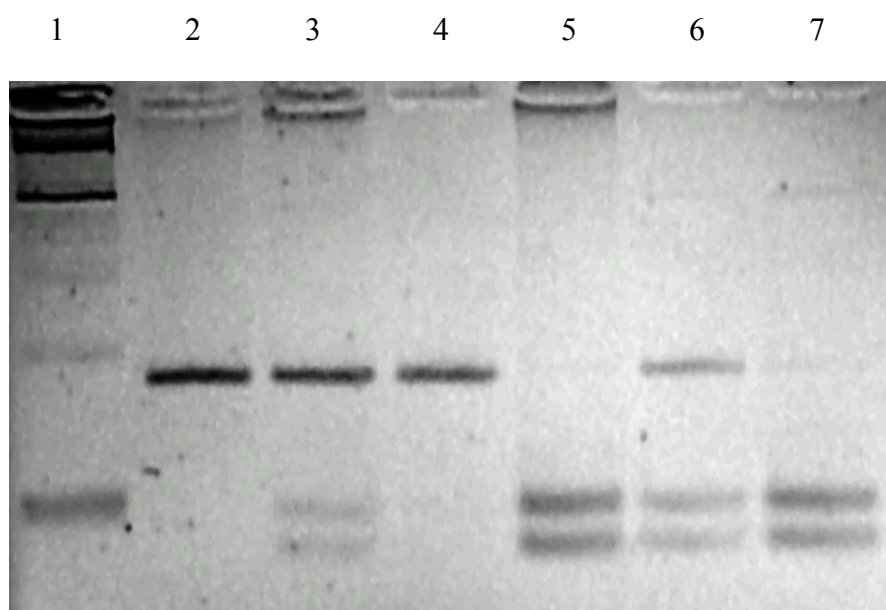


Figura 4- Digestão enzimática para a identificação do polimorfismo do gene *GSTP1*B* no exon 5. Gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídeo mostrando os produtos da digestão 176pb, 91 e 85pb. A primeira coluna representa o marcador de tamanho do DNA de 100pb (Invitrogen). Indivíduos com genótipo homozigotos (176pb) estão representados nas colunas 2 e 4. Indivíduos com genótipo heterozigotos (176, 91 e 85pb) estão representadas nas colunas 3 e 6. E indivíduos homozigotos variantes (91 e 85pb) estão representadas nas colunas 5 e 7.

A tabela 14 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas. Foi observada uma correlação do genótipo *GSTT1* nulo em pacientes fumantes pesados (≥ 40 anos/Maço), com valor de $P= 0,01$. Os dados anos/maço não foram obtidos para os controles.

Tabela 14- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	GSTMI			GSTTI		
		Presente	Nulo	Valor P	Presente	Nulo	Valor P
		n (%)	n (%)		n (%)	N (%)	
Idade							
< 64 anos	100	56 (56,0)	44 (44,0)	0,6701*	85 (85,0)	15 (15,0)	0,2246*
≥ 64 anos	100	53 (53,0)	47 (47,0)		88 (88,0)	12 (12,0)	
Gênero							
Masculino	144	78 (54,2)	66 (45,8)	0,8793*	123 (85,4)	21 (14,6)	0,4431*
Feminino	56	31 (55,4)	25 (44,6)		50 (89,3)	6 (10,7)	
Etnia							
Caucasóides	158	84 (53,2)	74 (46,8)	0,4620*	136 (86,1)	22 (13,9)	0,7336*
Afro-Brasileiros	42	25 (59,5)	17 (40,5)		37 (88,1)	5 (11,9)	
Histologia							
CPNPC	168	91 (54,2)	77 (45,8)	0,8283*	148 (88,1)	20 (11,9)	0,1304*
CPPC	32	18 (56,3)	14 (43,8)		25 (78,1)	7 (21,9)	
Estadiamento							
I + II	68	34 (50,0)	34 (50,0)	0,3590*	62 (91,2)	6 (8,8)	0,1648*
III + IV	132	75 (56,8)	57 (43,2)		111 (84,1)	21 (15,9)	
Tabagismo							
Sim	179	97 (53,6)	84 (46,4)	0,4257*	152 (85,0)	27 (15,0)	0,9397
Não	21	13 (61,9)	8 (38,1)		21 (100,0)	0	
Anos/Maço**							
< 40	63	32 (50,8)	31 (49,2)	0,5748*	59 (93,7)	4 (6,3)	0,0164
≥ 40	116	64 (55,2)	52 (44,8)		93 (80,2)	23 (19,8)†	

Nº: número de casos; *Qui-quadrado; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; † genótipo *GSTT1* nulo, maior frequência em tabagistas pesados (≥ 40 anos/maço); ** 21 pacientes nunca fumaram

A tabela 15 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes CP, distribuídos pelas variáveis clínicas. Foi observada uma correlação dos genótipos *GSTM1* e *GSTT1* ambos nulos em pacientes fumantes pesados (≥ 40 anos/Maço), com valor de $P=0,01$. Os dados anos/maço não foram obtidos para os controles. Em relação a outras variáveis como idade, gênero, etnia, histologia, estadiamento e tabagismo, não foram observadas diferenças significativas.

Tabela 15- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* combinados em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Polimorfismo <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>						
Variáveis	Nº	Ambos Presentes	Um Nulo	Ambos Nulos		
		n (%)	n (%)	n (%)	Valor <i>P</i>	
Idade						
< 64 anos	100	48 (48,0)	45 (45,0)	7 (7,0)	0,76	
≥ 64 anos	100	46 (46,0)	49 (49,0)	5 (5,0)		
Gênero						
Masculino	144	68 (47,2)	65 (45,1)	11 (7,7)	0,29*	
Feminino	56	26 (46,4)	29 (51,8)	1 (1,8)		
Etnia						
Caucasóides	158	73 (46,2)	74 (46,8)	11 (7,0)	0,68*	
Afro-Brasileiros	42	21 (50,0)	20 (47,6)	1 (2,4)		
Histologia						
CPNPC	168	80 (47,6)	79 (47,0)	9 (5,4)	0,66	
CPPC	32	14 (43,8)	15 (46,8)	3 (9,4)		
Estadiamento						
I + II	68	32 (47,1)	32 (47,1)	4 (5,8)	1,00	
III + IV	132	62 (47,0)	62 (47,0)	8 (6,0)		
Tabagismo						
Sim	179	81 (45,2)	86 (48,0)	12 (6,6)	0,35*	
Não	21	13 (61,9)	8 (38,1)	0		
Anos/Maço**						
< 40	63	28 (44,4)	35 (55,6)	0	0,01*	
≥ 40	116	53 (45,7)	51 (44,0)	12 (10,3)†		

Nº: número de casos; *Teste Fisher; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; † genótipo *GSTT1* nulo, maior frequência em tabagistas pesados (≥ 40 anos/maço).

A tabela 16 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTP1*B* em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas. Os resultados não mostraram nenhuma correlação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas.

Tabela 16- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTP1*B* em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	Polimorfismo <i>GSTM1</i> e <i>GSTP1</i> * <i>B</i>				Valor <i>P</i>
		Presente e	Nulo e	Nulo e	Presente e	
		I/I	I/I	I/V+V/V	I/V+V/V	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Idade						
< 64 anos	100	27 (27,0)	20 (20,0)	24 (24,0)	29 (29,0)	0,36
≥ 64 anos	100	20 (20,0)	15 (15,0)	32 (32,0)	33 (33,0)	
Gênero						
Masculino	144	32 (22,2)	24 (16,7)	42 (29,2)	46 (31,9)	0,81
Feminino	56	15 (26,8)	11 (19,6)	14 (25,0)	16 (28,6)	
Etnia						
Caucasóides	158	37 (23,4)	32 (20,3)	42 (26,6)	47 (29,7)	0,21*
Afro-Brasileiros	42	10 (23,8)	3 (7,1)	14 (33,3)	15 (35,7)	
Histologia						
CPNPC	168	41 (24,4)	30 (17,9)	47 (28,0)	50 (29,8)	0,81
CPPC	32	6 (18,8)	5 (15,6)	9 (28,1)	12 (37,5)	
Estadiamento						
I + II	68	13 (19,1)	11 (16,2)	23 (33,8)	21 (30,9)	0,53
III + IV	132	34 (25,8)	24 (18,2)	33 (25,0)	41 (31,1)	
Tabagismo						
Sim	179	41 (22,9)	33 (18,4)	51 (28,5)	54 (30,2)	0,86*
Não	21	6 (28,6)	2 (9,5)	5 (23,9)	8 (38,0)	
Anos/Maço**						
< 40	63	15 (23,8)	14 (22,2)	17 (27,0)	17 (27,0)	0,69
≥ 40	116	27 (23,3)	18 (15,5)	34 (29,3)	37 (31,9)	

Nº: número de casos; *Teste Fisher; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; **21 pacientes nunca fumaram;

A tabela 17 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1*B* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas. Os resultados não mostraram nenhuma correlação entre os polimorfismos e as variáveis clínicas.

Tabela 17- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1*B* (isolados) em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Variáveis	Nº	GSTT1			GSTP1*B			
		Presente	Nulo	Valor P	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	Valor P
		n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	n (%)	
Idade								
< 64 anos	100	85 (85,0)	15 (15,0)	0,5348*	47 (47,0)	42 (42,0)	11 (11,0)	0,2246*
≥ 64 anos	100	88 (88,0)	12 (12,0)		35 (35,0)	51 (51,0)	14 (14,0)	
Gênero								
Masculino	144	123 (85,4)	21 (14,6)	0,4722*	56 (38,9)	71 (49,3)	17 (11,8)	0,4431*
Feminino	56	50 (89,3)	6 (10,7)		26 (46,4)	22 (39,3)	8 (14,3)	
Etnia								
Caucasóides	158	136 (86,1)	22 (13,9)	0,7336*	69 (43,7)	68 (43,0)	21 (13,3)	0,1916
Afro-Brasileiros	42	37 (88,1)	5 (11,9)		13 (31,0)	25 (59,5)	4 (9,5)	
Histologia								
CPNPC	168	20 (11,9)	148 (88,1)	0,1304*	71 (42,3)	75 (44,6)	22 (13)	0,5650
CPPC	32	7 (21,9)	25 (78,1)		11 (34,4)	18 (56,3)	3 (9,4)	
Estadiamento								
I + II	68	111 (84,1)	6 (8,8)	0,1947*	24 (35,3)	34 (50,0)	10 (14,7)	0,4746*
III + IV	132	62 (91,2)	21 (15,9)		58 (43,9)	59 (44,7)	15 (11,4)	
Tabagismo								
Sim	179	152 (85,0)	27 (15,0)	0,0821	74 (41,3)	82 (45,8)	23 (12,7)	0,9397
Não	21	21 (100,0)	0		8 (38,0)	11 (52,4)	2 (9,5)	
Anos/Maço**								
< 40	63	59 (93,7)	4 (6,3)	0,0164	29 (46,0)	26 (41,3)	8 (12,7)	0,5840*
≥ 40	116	93 (80,2)	23 (19,8)		45 (38,8)	57 (49,1)	14 (12,1)	

Nº: número de casos; *Teste Fisher; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; ** 21 pacientes nunca fumaram

A tabela 18 mostra as frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1*B* em pacientes com CP distribuídos pelas variáveis clínicas. Foi observada uma correlação do genótipo *GSTT1* nulo e genótipo I/V+V/V do gene *GSTP1*B* em pacientes fumantes pesados (≥ 40 anos/maço), com valor de $P= 0,04$. Os dados anos/maço não foram obtidos para os controles. Não foram observadas diferenças significativas entre outras variáveis.

Tabela 18- Frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1*B* combinados em pacientes com CP, distribuídos pelas variáveis clínicas:

Polimorfismo <i>GSTT1</i> e <i>GSTP1*B</i>						
Variáveis	Nº	Presente e I/I	Nulo e I/I	Nulo e I/V+V/V	Presente e I/V+V/V	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	Valor <i>P</i>
Idade						
< 64 anos	100	40 (40,0)	7 (7,0)	8 (8,0)	45 (45,0)	0,33
≥ 64 anos	100	31 (31,0)	4 (4,0)	8 (8,0)	57 (57,0)	
Gênero						
Masculino	144	47 (32,6)	9 (6,3)	12 (8,3)	76 (52,8)	0,61
Feminino	56	24 (42,9)	2 (3,6)	4 (7,1)	26 (46,4)	
Etnia						
Caucasóides	158	59 (37,3)	10 (6,3)	12 (7,6)	77 (48,7)	0,50*
Afro-Brasileiros	42	12 (28,6)	1 (2,4)	4 (9,5)	25 (59,5)	
Histologia						
CPNPC	168	63 (37,5)	8 (4,8)	12 (7,1)	85 (50,6)	0,30
CPPC	32	8 (25,0)	3 (9,4)	4 (12,5)	17 (53,1)	
Estadiamento						
I + II	68	22 (32,4)	2 (2,9)	4 (5,9)	40 (58,8)	0,39*
III + IV	132	49 (37,1)	9 (6,8)	12 (9,1)	62 (47,0)	
Tabagismo						
Sim	179	63 (35,2)	11 (6,1)	16 (9,0)	89 (49,7)	0,48*
Não	21	9 (38,0)	0	0	13 (62,0)	
Anos/Maço**						
< 40	63	26 (41,3)	3 (4,8)	1 (1,6)	33 (52,3)	0,04*
≥ 40	116	37 (31,9)	8 (6,9)	15 (12,9)†	56 (48,3)	

Nº: número de casos; *Teste Fisher; CPNPC: carcinoma de pulmão não pequenas células; CPPC: carcinoma de pulmão pequenas células; †genótipo *GSTT1* nulo e genótipo I/V+V/V do gene *GSTP1*B*, maior frequência em tabagistas pesados (≥ 40 anos/maço); ** 21 pacientes nunca fumaram



DISCUSSÃO

O CP é a neoplasia de maior letalidade, com taxa de incidência quase semelhante à da mortalidade. A compreensão dos seus mecanismos etiopatogênicos é fundamental na tentativa de melhorar seu prognóstico. A redução da mortalidade depende do desenvolvimento de técnicas de diagnóstico precoce e desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, já que a cirurgia parece ter atingido a sua máxima resolutividade. Entretanto, as tentativas de diagnóstico precoce como política de saúde pública foram ineficazes até o momento (Frost et al., 1984). A biologia molecular é um campo recente onde recaem esperanças na melhora do prognóstico desta doença.

A idade média dos pacientes em nossa casuística com CP foi de 64 anos (tabela 1), semelhantes às observadas nas populações estudadas por Schneider et al. (2004), cuja média foi de 64,4 anos, por Wenzlaff et al. (2005), com a média de 62,4 anos e Sreeja et al. (2005), em uma população da Índia, com a média de 60 anos. Esta média de idade está dentro da faixa etária onde o CP é mais diagnosticado, entre 60 e 70 anos. Em relação ao grupo-controle, a média foi de 54 anos de idade, justificada porque a grande maioria dos casos (95%) eram doadores de sangue. A diferença de idade entre os grupos não interfere sobre a análise dos resultados, porque a grande maioria dos polimorfismos é herdada e não adquirida.

A doença foi mais comum, no gênero masculino, em uma proporção de 2,6: 1 (tabela 1). Interessante notar que, em dados obtidos no mesmo Serviço de Oncopneumologia, entre os anos de 1988 e 1990, esta proporção foi de 4:1 (Zambon, 1994). A evolução da distribuição por gênero observada neste serviço está de acordo com a tendência atual do aumento em CP em mulheres. Dados referentes à mortalidade por CP, de 1979 a 1999, mostraram um crescimento de 57% em homens e de 122% em mulheres (World Health Organization, 1999). O tabagismo no Japão cresceu mais de dez vezes entre os homens e mais de oito vezes entre as mulheres desde 1950 (Chollat-Traquet, 1992), fato que se repete em outros países Asiáticos. Nos últimos anos, há uma estabilidade da incidência do CP em homens nos EUA, provavelmente por mudança do hábito tabágico (Zamboni, 2002), fato que não é observado entre as mulheres. Além do tabaco deve haver outros fatores, principalmente endógenos, que potencializam a ação dos carcinógenos contidos no tabaco.

Em relação à etnia, o CP predominou nos pacientes Caucasóides, 79% dos casos contra 21% em Afro-Brasileiros, semelhantes aos encontrados por Losi-Guembarovski et al. (2002). Os resultados deste estudo podem ter refletido a distribuição étnica da população que procura assistência médica no Hospital das Clínicas da UNICAMP. A população brasileira é altamente heterogênea e composta predominantemente por indivíduos miscigenados (Alves-Silva et al., 2000; Carvalho-Silva et al., 2001), o que indica que os estudos que avaliam a etnia, apenas por meio da observação do biótipo, como neste estudo, não são confiáveis. De qualquer maneira, os resultados encontrados no grupo-controle quanto à etnia são muito semelhantes às encontradas no grupo dos pacientes com CP (tabela 1). Outros estudos mostram que fatores étnicos podem ter importância na ocorrência da doença. (Kelsey et al., 1997; Ford et al., 2000; Ozturk et al., 2003; Pinarbasi et al., 2003; Barnholtz-Sloan et al. 2005; Cote e Celli, 2005). Gadgeel et al. (2001) mostraram uma incidência 37% maior de CP em negros quando comparados aos Caucasóides, em uma população Americana. Este estudo de diferenças raciais e hábitos tabágicos, revelam que os negros geralmente começam a fumar mais cedo, fumam menos cigarros ao dia e demonstram menor preocupação em abandonar o hábito.

A relação causal entre tabagismo e CP é bem conhecida desde a década de 50 e que também se repetiu nesta casuística, pois 90% dos doentes faziam uso do tabaco. Em relação ao hábito tabágico, 64,8% dos doentes com CP fumaram mais que 40 anos/maço, o que é concordante com a literatura, pois o aparecimento da doença está diretamente relacionado com a intensidade da exposição (Sreeja et al., 2005). Nos casos-controle não se obteve informações relativas à intensidade de exposição. Em relação ao estadiamento, 66% deste estudo foram considerados como doença avançada (estadio III e IV). Estudos realizados no mesmo Serviço de Oncopneumologia por Zambon (1994) e Perroud (2002) demonstraram que, respectivamente, 73% e 85% dos doentes tinham doença avançada no momento do diagnóstico. Infelizmente os resultados apresentados devem estar sub-dimensionados, porque o estadiamento anatômico (TNM) para o CP é complexo e muito dispendioso e pode estar refletindo o momento difícil que a Instituição, na qual estamos inseridos, está passando. A comparação de dados com a literatura é complicada, pois o resultado de 66% de doença no estágio III e IV no neste estudo é semelhante às

encontradas nos EUA (Nazar-Stewart et al, 2003), mas provavelmente não é o aumento do diagnóstico precoce em nossa macrorregião. De qualquer maneira, o número é bastante alto e refletem o prognóstico sombrio do CP.

Em relação à histologia, 84% foram compostos por CPNPC (epidermóide, adenocarcinoma e grande células) e 16% CPPC, resultados similares encontrados na literatura (Schneider et al., 2004).

As amostras de pacientes e controles avaliados para o gene polimórfico *CYP1A1**2A estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Assim, os controles foram adequados para a avaliação da frequência do polimorfismo gênico na população geral e, conseqüentemente, para a comparação com a frequência obtida em pacientes com CP. As frequências do genótipo *CYP1A1**2A em pacientes e controles foram semelhantes (Tabela 3).

Sreeja et al. (2005) observaram em uma população Indiana com CP, uma alta frequência para o gene *CYP1A1* polimórfico em heterozigotos e na variante homozigota ($P=0,012$), resultados também observados em estudos Chineses (Song et al, 2001) e em outra população do Norte da Índia com CP (Sobti et al, 2003). Não obtivemos essa correlação do gene *CYP1A1**2A com maior susceptibilidade para o CP (OR=0,84, IC95%:0.51-1.39, $P=0,49$). Estes resultados podem sugerir que a variante do gene *CYP1A1* está associada com o CP em Asiáticos e Indianos (Kawajiri, 1990; Garte et al, 2001).

Muitos estudos investigam a associação entre *CYP1A1**2A e os polimorfismos *GSTs* para a susceptibilidade ao CP. Os genótipos *CYP1A1**2A variante com *GSTM1* e *GSTT1* nulos estiveram associados com o aumento do risco para CP no estudo de Hayashi et al. (1991). Este estudo relatou mais tarde, um aumento de 5,8 vezes o risco de CP em indivíduos com *CYP1A1* variante e *GSTM1* nulo (genótipos combinados). Estudo feito por Daniel et al. (2005) mostra que esta correlação dos genótipos variantes combinados teve um risco de 1,7 (IC 95% 0,9-3,3). Sobti et al. (2004), em um estudo no norte da Índia, reportaram duas vezes mais risco para CP com genótipo variante *CYP1A1* e *GSTM1* nulo. Estudando os genes em associação *CYP1A1**2A e *GSTM1/T1* nulos, não se obteve significância estatística ($P=0,73$). Estes resultados reforçam a importância da etnia e o polimorfismo gênico destas enzimas ativadoras e metabolizadoras dos carcinógenos.

Na correlação do polimorfismo do gene *CYP1A1*2A* com as variáveis clínicas deste estudo (Tabela 4), não se encontrou diferenças nas frequências deste gene, em relação à idade (< 64 anos , ≥ 64 anos), gênero (masculino, feminino), tabagismo (sim, não), histologia (CPNPC, CPPC) e estadiamento (I+II, III+IV).

Daniel et al. (2005) correlacionaram o genótipo *CYP1A1*2A* variante com o risco de CP em 2,4 em mulheres chinesas que nunca fumaram e com baixa exposição à poluição tabágica ambiental. Nesta casuística não obtivemos correlação nos polimorfismos pesquisados em relação ao gênero.

Nas tabelas 4, 6, 8 e 11, encontrou-se uma frequência maior do genótipo selvagem do gene *CYP1A1*2A* em pacientes Caucásios que em Afro-Brasileiros (62,0% vs 35,7%). Ao comparar estes pacientes controles Caucásios, foram observadas as mesmas porcentagens (62,0% vs 62,8%).

As combinações do genótipo TC/CC do gene *CYP1A1*2A* com *GSTM1* presente, foi mais frequente em Afro-Brasileiros (40,5%) que em pacientes Caucásios (18,4%), valor de $P= 0,01$ (Tabela 5). A frequência da combinação acima citada foi maior que a observada em controles Afro-Brasileiros (40,5% vs 26,5%), mas sem significância estatística $P= 1,36$.

As combinações dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1*2A* com *GSTT1* presente, foram mais frequentes em Afro-Brasileiros (54,8%) do que em pacientes Caucásios (34,8%), valor de $P= 0,009$ (Tabela 7). Ao comparar a frequência da combinação acima citada com controles Afro-Brasileiros (54,8% vs 47,0%) às frequências foram semelhantes.

As combinações dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1*2A* com *GSTM1/T1*, ambos presentes, foram mais frequentes em Afro-Brasileiros (33,3%) que em pacientes Caucásios (16,5%), valor de $P= 0,03$ (Tabela 9). A frequência desta combinação acima citada foi um pouco maior à observada em controles Afro-Brasileiros (33,3% vs 20,4%), mas sem significância estatística $P= 0,09$.

Ao correlacionar *CYP1A1*2A*, com o *GSTP1* encontrou-se uma maior frequência na etnia Afro-Brasileira (*CYP1A1*2A* TC/CC e *GSTP1* I/V+V/V com valor de $P= 0,005$) → tabela 12. Entretanto, ao comparar as frequências dos genótipos TC/CC do gene *CYP1A1*2A* e dos genótipos I/V + V/V do gene *GSTP1* com controles Afro-Brasileiros (40,5% vs 38,8%) não foi observada nenhuma significância estatística.

Não se pode afirmar que os resultados deste trabalho sobre a presença *CYP1A1*2A* TC/CC associados a diferentes polimorfismos dos *GSTs* indiquem que haja um maior risco de CP em Afro-Brasileiros, apesar das frequências e valores de P serem seguidamente maiores na etnia Afro-Brasileira no grupo dos pacientes com CP, porque essas diferenças não foram observadas no grupo-controle. É importante, que haja um aumento do número de casos estudados, principalmente no grupo-controle, para avaliar melhor a possibilidade da etnia Afro-Brasileira desta população estudada ter algum fator endógeno ou ser mais susceptível aos carcinógenos contidos no tabaco e, conseqüentemente, em ter mais CP.

Ao correlacionar o genótipo TC/ CC do gene *CYP1A1*2A* e *GSTM1* presente com a histologia, obteve-se uma correlação com CPPC ($P= 0,02$) → tabela 5, mas esta correlação deixa de existir ao compará-los com controles ($P=0,37$). Yang et al. (2007) observaram uma maior associação de *CYP1A1*2A* com o tipo histológico epidermóide do que com adenocarcinomas. O estudo de Saarikoski et al. (1998) mostrou na população Finlandesa uma correlação dos genótipos *GSTM1* e *GSTT1* variantes com carcinoma epidermóide em fumantes com grande consumo de tabaco (≥ 40 anos/maço). Estes dados compatíveis com a literatura indicam que o carcinoma epidermóide e, principalmente o carcinoma de pequenas células, têm maior relação com o tabaco do que o adenocarcinoma (De Stefani et al., 2005).

A associação dos pacientes com CP que fumaram mais de 40 anos/maço e que apresentaram *CYP1A1*2A* homozigoto e *GSTT1* nulo (tabela 7), mostra um $P=0,02$ na análise estatística. Entretanto, como não há informações relativas à variável clínica anos/maço no grupo-controle, não foi possível compará-los. Em relação a estes resultados, pode-se apenas sugerir a associação destes genótipos com fumantes com grande consumo de tabaco (≥ 40 anos/ maço).

Não foram encontradas diferenças nas frequências de deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com CP e controles (Tabela 13). Revisão realizada por Hosgood et al. (2007) sobre os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* e a susceptibilidade para o CP na população Asiática, encontraram uma forte associação do genótipo *GSTM1* nulo com o risco de CP ($P=0,0003$). Um outro estudo de Mohr et al. (2003) também mostrou uma forte associação do genótipo *GSTM1* nulo com risco de CP em populações Afro-Americanas e em Asiáticos, enquanto que nos Caucasoídes não houve esta correlação. Saarikoski et al. (1998) estudando uma população Finlandesa não encontraram esta correlação. Estudos feitos na macro-região de Campinas (Arruda et al, 2001) e outros estados brasileiros (Hatagima et al, 2000 e Rossini et al, 2002) encontraram as mesmas frequências da deleção do *GSTM1* isolada ou combinada dos nossos resultados.

Nesta casuística, não se observou correlação do genótipo *GSTT1* nulo com a maior susceptibilidade para o aparecimento do CP, sendo que a frequência deste genótipo foi de 12,9% em controles e 13,5% nos pacientes com CP, com valor de $P=0,54$, (tabela 13). Outros estudos feitos na população brasileira por Arruda et al. (2001), mostram 18,1% genótipo *GSTT1* nulo, mas inferiores aos encontrado por Rossini et al. (2002) que observaram uma frequência de 25,4%.

A prevalência de indivíduos com genótipo *GSTT1* nulo, mostra uma ampla variação entre as diferentes populações étnicas. Nelson et al. (1995) relataram que o genótipo nulo para *GSTT1* esteve presente em 64% dos Chineses, 60% em Coreanos, 28% em Caucasoídes e 22% em Afro-Americanos. Rebbeck (1997), estudando uma população Caucasoíde encontraram 20%, Saarikoski et al. (1998) em uma população Finlandesa obtiveram 13,3% e Bailey et al. (1998) estudando populações Caucasoídes e Americana-Africana, acharam 14% dos casos do genótipo *GSTT1* nulo. Preliminarmente, podemos afirmar que este genótipo nulo é mais comum nas populações Asiáticas que Caucasoídes.

Sreeja et al. (2005) demonstraram que o genótipo nulo para *GSTT1* esteve associado com o aumento significativo para o risco do CP, com OR 2,870. Este achado reafirma os resultados encontrados por Taioli et al. (2003), em uma população Caucasoíde, e por Sorensen et al. (2004) em uma população Caucasoíde com CP, mas não encontrado por Lan et al. (2000).

Os dados encontrados neste estudo e os da literatura reforçam a hipótese que o polimorfismo gênico das enzimas metabolizadoras dos carcinógenos contidos no tabaco tem uma forte relação com diferentes etnias. Estudos populacionais são de difícil interpretação, pois além dos fatores étnicos, estão envolvidos fatores ambientais como hábito de cozinhar em casa no fogão a lenha e exposição passiva do tabaco. As exposições ocupacionais são outras causas envolvidas na etiopatogenia do CP e de difícil quantificação.

As amostras de pacientes e controles avaliados para o gene polimórfico *GSTP1* estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Beiguelman, 1995). Assim, os controles foram adequados para a avaliação da frequência do polimorfismo gênico na população geral e, conseqüentemente, para a comparação com a frequência obtida em pacientes com CP (tabela 13).

Recentes estudos examinando a associação entre o gene *GSTP1* e o CP, não encontraram associação estatisticamente significativa com esta patologia (Schneider et al, 2004), resultado este, parecido com o estudo proposto, onde não foi encontrado associação com o CP ($P=0,87$).

Nos estudos de Miller et al., 2002, em uma população de Boston, a frequência da população- controle foi de 44%, 46% e 10% para os genótipos Ile/Ile, Ile/Val e Val/Val, respectivamente. Frequências estas muito parecidas com os nossos resultados em pacientes com CP: 41,0% (Ile/Ile), 46,5% (Ile/Val) e 12,5% (Val/Val) e também com os nossos controles: 39,8% (Ile/Ile), 48,9% (Ile/Val) e 11,4% (Val/Val). Estas frequências acima citadas foram um pouco diferentes das encontradas em uma população Tailandesa 63% (Ile/Ile), 35% (Ile/Val) e 2% (Val/Val) segundo Lee et al. (2000), mas similar à observada nos controles normais em Japoneses e Tailandeses (Morita et al., 1998; Watson et al., 1998).

A correlação dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* na forma isolada (Tabela 14) e combinada (tabelas 15) com as variáveis clínicas do estudo, nos pacientes com CP, não mostraram diferenças nas frequências deste gene isolado ou combinado, nas variáveis: idade (<64 anos, ≥64 anos), gênero (masculino, feminino), etnia (Caucasóide, Afro-brasileiro), tabagismo (sim, não), histologia (CPNPC, CPPC) e estadiamento (I+II, III+IV).

Em relação à variável intensidade do tabagismo (≥ 40 anos/maço), encontramos no genótipo *GSTT1* nulo (tabela 14) um valor de $P=0,016$. Este resultado se repete na tabela 15, na forma combinada dos genótipos *GSTM1* nulo e *GSTT1* nulo, nos pacientes que fumaram mais de 40 anos/maço.

Em relação às associações dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTP1* com variáveis clínicas do estudo, nos 200 casos de CP, não se encontrou nenhuma diferença estatisticamente significativa nos resultados (tabela 16). O mesmo ocorre nas frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1* (tabela 17).

As frequências dos polimorfismos dos genes *GSTT1* e *GSTP1* estratificadas pelos aspectos clínicos do estudo, mostram uma correlação dos genótipos *GSTT1* nulo com I/V+V/V do gene *GSTP1* em pacientes que fizeram uso de mais de 40 anos/maço com valor de $P=0,04$ (tabela 18). Novamente, pelo fato de não haver quantificação do hábito tabágico no grupo-controle, pode-se apenas sugerir que esta alteração gênica, leva a uma maior incidência de CP neste grupo de tabagistas.

Os resultados do estudo proposto são coincidentes com a literatura. Nesta, parece claro que os polimorfismos dos genes aqui estudados têm papel importante na susceptibilidade para CP entre os Asiáticos e talvez na etnia negróide. Nos Caucasóides, parece não ter esta importância, o que foi coincidente com os resultados apresentados na literatura. Finalmente, este estudo tem indícios que a etnia Afro-Brasileira foi mais susceptível ao CP, mas esta resposta talvez possa ser dada, se houver um aumento da casuística do grupo- controle, bem como uma melhor caracterização da etnia.



CONCLUSÕES

- O início da formação de um banco de dados, com as frequências dos genes metabolizadores de substâncias contidas no tabaco, foram obtidos. A comparação com outros estudos foi possível, mas há necessidade do aumento do número e de uma melhor definição dos padrões de etnia no grupo-controle.
- Os polimorfismos gênicos isolados e combinados, não determinaram maior risco CP neste estudo, quando comparado ao grupo-controle.
- Em relação à etnia, pode-se sugerir que na população Afro-Brasileira estudada, haja indícios que o polimorfismo dos genótipos TC+CC do gene *CYP1A1**2A e *GSTs* levou o aumento da susceptibilidade para o CP. Na população caucasóide estudada, não houve nenhuma correlação.
- Não houve correlação dos polimorfismos estudados com as outras variáveis clínicas.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves-Silva J, Silva-Santos M, Guimarães PE, Ferreira AC, Bandelt HJ, Pena SD. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 444-461.

Antila S, Hirvonen A, Vainio H, Husgafvel- Pursiainen K, Hayes JD, Ketterer B. Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung. *Cancer Res* 1993; 53: 5643- 5648.

Arruda VR, Lima Passos CS, Grignoli CRE, Melo MB, Lorand-Metze I, Alberto FL et al. Increased risk for acute myeloid leukemia in individuals with glutathione S- transferase mu 1 (*GSTM1*) and Theta 1 (*GSTT1*) gene defects. *Eur J Haematol* 2001; 66:1-6.

Augusto LGS, Lieber SR, Ruiz MA, Souza CA. Micronucleus monitoring to assess human occupational exposure to organochlorides. *Environ Mol Mutagen* 1977; 29:46-52.

Awasthi YC, Sharma R, Singhal SS. Human glutathione S- transferases. *Int J Biochem* 1994; 26: 295:308.

Bailey LR, Roodi N, Verrier CS, Yee CJ, Dupont WD, Parl FF. Breast cancer risk and CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. *Cancer Res* 1998; 58: 65-70.

Bale AE, Nebert DW, McBride OW. Subchromosomal localization of the dioxin- inducible p1-450 locus (CYP1) and description of two RFLPs detected with a 3' p1-450 cDNA probe. *Cytogenet Cell Genet* 1987; 46: 574-575.

Barnholtz-Sloan JS, Chakraborty R, Sellers TA, Schwertz AG. Examining population stratification via individual ancestry estimates versus self-reported race. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(6):1545-51.

Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wilman H, Alxandov K. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9:3-28.

Beiguelman B. Dinâmica dos Genes nas Famílias e Populações. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética 1995; 2.ed: 1-472.

Board PG, Webb GC, Coggan M. Isolation of a cDNA clone and localization of human glutathione S-transferase 2 genes to chromosome band 11q13 and 12q13-14. *Annals of Human Genetics* 1989; 53: 205-213.

Buckpitt RA, Cruikshank MK. Biochemical function of the respiratory tract: Metabolism of xenobiotics. In: R.A. Roth, Editor, *Comprehensive toxicology. Toxicology of the respiratory system*. New York: Pergamon; 1997; 3: 159–186.

Cabral IR, Rossit AR, Hamel AR. Polimorfismos em genes de biometabolismo e prevalência do alelo CYP2E1*C2 em deficientes de G6PD assintomáticos: análises em uma população paraense. *Genet. Mole. Belo* 22 (sopa): 236-237. IV Congresso da Sociedade Brasileira de Metagênese, carcinogênese e teratogênese Ambiental, Águas de Lindóia, 1999.

Carvalho- Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 281-286.

Casaret LJ, Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, Casarett and Doull's. *Toxicology: the basic science of poisons*, Ed 5 ppXV,1111. New York: MacGraw-Hill Health Professions Division, 1996.

Cascorbi I, Brockmöller J, Roots I. A C4887A Polymorphism in Exon 7 of Human CYP1A1: population Frequency, Mutation Linkages, and Impact on Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Res* 1996; 56(1):4965-4969.

Chen H, Sandler DP, Taylor JA, Shore DL, Liu E, Bloomfield CD, et al. Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Lancet* 1996; 347: 295-297.

Chollat-Traquet C. *Women and tobacco*. Geneva: World Health Organization, 1992

Coles B, Yang M, Lang NP, Kadlubar FF. Expression of hGTSP1 alleles in human lung and catalytic activity of the native protein variant towards 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, 4-vinylpyridine and (+) anti benzo(a)pyrene-7,8-diol-9,10-oxide. *Cancer Lett* 2000; 156:167-75.

Cosma G, Crofts F , Taioli E, Toniolo P, Garte S. Relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gene. J Toxicol Environ Health 1993; 40:309–316.

Cote CG, Celli BR. Pulmonary rehabilitation and the BOXE index incocord. Eur Pulmonary J 2005 26(4):630-6.

Crofts F, Taioli E, Trachman J, Cosma GN, Toniolo P, Garte SJ. Functional significance of different Human CYP1 genotypes. Carcinogenesis 1994; 15(12):2961-3.

Daniel PKNG, Tan KW, Zhao B, Seow. CYP1A1 polymorphisms and risk of lung cancer in non-smoking Chinese women: influence of environmental tobacco smoke exposure and GSTM1/T1 genetic variation. Cancer Causes and Control 2005 16:399-405.

D' Arce LPG, Colus IMS. Cytogenetic and molecular biomonitoring agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. Teratog. Carcinogen and Mutagen 2000; 20: 161-170.

D' Errico A, Taioli E, Chen X , Vineis P. Genetic polymorphisms and the risk of cancer: a review of the literature. Biomarkers 1996; 1: 149-173.

De Stefani E, Boffeta P, Ronco AL, Brennan P, Correa P, Deneo-Pellegrini H, et al. Squamous and small cell carcinomas of the lung: similarities and differences concerning the role of tobacco smoking. Lung Cancer 2005;47(1):1-8.

Drakoulis N, Cascorbi I, Brockmoller J, Gross CR, Roots I. Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon 7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'- flanking region. Clinical Investigator 1994; 72:240-248.

Duncan BB, Schmidt MI, Polanczyk CA, Mengue SS. Altos coeficientes de mortalidade em populações adultas brasileiras: uma comparação internacional. Rev Ass Med Brasil 1992; 38: 138-144.

El- Zein R, Zweischenberger JB, Wood TG, Brekelbaum C, Au WW. Combined genetic polymorphisms and risk for development of lung cancer. Mutation Res 1997; 381: 189-200.

Fields WR, Morrow CS, Doss AJ, Sundberg K, Jernstom B, Townsend AJ. Overexpression of stably transfected human glutathione S-transferase P1-1 protects against DNA damage by benzo(a)pyrene diol-epoxide in human T47D cell. *Mol Pharmacol* 1998; 54:298-304.

Ford LG, Li Y, O' Sullivan MM, Demopoulos R, Garte S, Taioli E et al. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African- Americans. *Carcinogenesis* 2000;21:1971-1975.

Franklin WA. Diagnosis of Lung Cancer Pathology of Invasive and Preinvasive Neoplasia. *Chest* 2000; 117: 80s-89s.

Frost JK, Ball WC Jr, Levin ML, et al. Early lung cancer detection: results of the initial (prevalence) radiologic and cytologic screening in the Johns Hopkins study. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:549-554.

Gadgeel SM, Severson RK, Kua Y, Graff J, Weiss LK, Kalemkerian GP. Impact of Race in Lung Cancer- Analysis of Temporal Trends From a Surveillance, Epidemiology and End Results Database. *Chest* 2001; 102:55-63.

Garte S, Gáspari L, Alexandre AK et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:1239-1248.

Gonzalez FJ. The role of carcinogen-metabolizing enzyme polymorphism in cancer susceptibility. *Reprod Toxicol* 1997; 11:397-412.

Gonzalez, F. The molecular biology of cytochrome P450s. *Pharmacol Rev* 1988; 40:243-288.

Gresner P, Gromadzinska J and Wasowicz W. Polymorphism of selected enzymes involved in detoxification and biotransformation in relation to lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 57(11):1-25.

Guengerich FP, Thier R, Persmark M, Taylor JB, Pemble SE, Ketterer B. Conjugation of carcinogens by theta class glutathione S-transferase mechanisms and relevance to variations in human risk. *Pharmacogenetics* 1995; 5 Spec No: S103-107.

Hamada GS, Sugimura H, Suzuki I, Nagura K, Kirokawa E, Iwase T, et al. The heme-binding region polymorphism of cytochrome P450 1A1 (Cyp1A1), rather than the R50I polymorphism of CYP2D6 (Cyp2D6), is associated with lung cancer in Rio de Janeiro. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prev* 1995; 4:63-67.

Harada S, Abei M, Tanaka N, Agarwal DP, Goedde HW. Liver glutathione S-transferase polymorphism in Japanese and its pharmacogenetic importance. *Hum Genet* 1987; 75:322-325.

Harden DG. Inherited susceptibility to mutation. In: Philips DH. *Environmental Mutagenesis*. Oxford: Bios Scientific; 1995. p.61-81.

Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GCW, Wolf CR. Identification of genetic polymorphism at the glutathione S-transferase P locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997; 18: 641-644.

Harrison DJ, Cantalay AM, Era F, Lamb D, Smith CA. Frequency of glutathione S-transferase M1 deletion smokers with emphysema and lung cancer. *Hum Exp Toxicol* 1997; 16: 356-360.

Hatagima A. Estudo vai investigar polimorfismos ligados ao câncer oral e de laringe. 2005 Jan [acesso em 19 de jan de 2005]. Disponível em: URL:<http://www.saude.ribeiraopreto.sp.gov.br/ssaude/noticias/i16principal.asp?pagina=/ssaude/noticias/2005/0501/I16050119estu.htm>

Hatagima A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. *Cad Saúde Pública* 2002; 18(2):357:377.

Hatagima A, Guimarães MJK, Silva FP, Cabello PH. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genet Mol Biol* 2000; 23:709-713.

Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated *MspI* polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *J Biochem* 1991;110(3):407-411.

Hayashi SI, Watanabe J, Kawajiri K. High susceptibility to lung cancer analyzed in term of combined glutathione S-transferase genes. *Jpn J Cancer Res* 1992;83: 866–870.

Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and contributions of the esoenzymes to cancer chemo protection and drug resistance. *Crit Ver Biochem Mol Biol* 1995; 30:445-600.

Hirvonen A, Husgafvel- Pursiainen K, Anttila S, Vainio H. The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* 1993; 14: 1479-1481.

Hirvonen A, Saarikoski ST, Linnainmma K, Koskinen K, Husgafvel- PursiainenK, Mattson K et al. Glutathione S- transferase and N-acetyltransferase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *J Nat Cancer Inst* 1996; 88,1853-1856.

Hosgood HD, Berndt S, Lan Q. GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian population with indoor air pollution exposures: A meta-analysis. *Mutation Research/ Article in Press/ doi 101016/s.mrrev 2007.02.002*.

Houlston RS. Glutathione S-transferase M1 status and lung cancer risk: a meta analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 1999; 8:675-82.

Hu X, O'Donnell R, Srivatava SK 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 7 β ,8 α -dihydroxy-9 α ,10 α -oxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235:424-428.

Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer Brasília (DF); 2006 [acesso em 19/02/2004]; Disponível em: URL:<http://www.inca.org.br>

Ioannides C. *Cytochromes P450: Metabolic and Toxicological Aspects*. New York: CRC Press, 1996.

Johns LE, Houlston RS. Glutathione S-transferase μ L (GSTM1) status and bladder cancer risk: a meta- analysis. *Mutagenesis* 2000; 15: 399-404.

Juchau, MR. Substrate Specificities and functions of the P450 cytochromes. Life Sci 1990; 47:2385-94.

Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shimoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene. FEBS Letters 1990; 263:131-133.

Kelsey KT, Wrensch M, Zuo ZF, Mike R, Wiencke JK. A population-based case-control study of the CYP2D6 and GSTT1 polymorphisms and malignant brain tumors. Pharmacogenetics 1997; 7(6):463-8.

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 cancer. Environ H Perspect 1992; 98: 87:94.

Kihara M, Kihara M, Noda K. Lung Cancer risk of *GSTM1* null genotype in dependent on the extent of tobacco smoke exposure. Carcinogenesis 1994; 15: 413-418.

Lan Q, He X, Costa DJ, Tian L, Rothman N, et al. Indoor coal combustion emissions, *GSTM1* and *GSTT1* genotypes, and lung cancer risk: A case-control study in Xuan Wei, China . Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000;9:605–608.

Larsen JE, Colosimo ML, Yang IA, Bowman R, Zimmerman PV, Fong KM. CYP1A1 Ile 462Val and MPO G- 463A interact to increased risk of adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma of the lung. Carcinogenesis 2006; 27(3): 525-532.

Lee JM, Lee YC, Yang SY, Shi WL, Lee CJ, Luh SP, et al. Genetic Polymorphisms of P53 and GSTP1, but not NAT2, are associated with susceptibility to squamous- cell carcinoma of the esophagus. Int J Cancer 2000; 89:458:464.

Li WY, Lai BT, Zhan XP. The relationship between genetic polymorphism of metabolizing enzymes and the genetic susceptibility to lung cancer. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi 2004; 25: 1042–1045.

Lin DX, Kadlubar FF. Metabolic activation of carcinogen 4-aminobiphenyl by human neutrophil myeloperoxidase. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1994; 8: 221-226.

Losi- Guembarovski R, D'Arce LPG, Cólus MS. Glutathione S-transferase Um (GSTM1) null genotype in relation to gender age and smoking status in a healthy Brazilian population. *Genetics and molecular Biology* 2002;25 (4): 357-360.

Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jensson H, Tahir MK, Waholm M, et al. Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:7202-7206.

Matsuzoe D, Hideshima T, Iwasaki A, Yoneda S, Kawahara K, Shirakusa T et al. Glutathione S-transferase μ 1 null genotype is associated with K-ras gene mutation in lung adenocarcinoma among smokers. *Carcinogenesis* 2001; 22(8): 1327-1330.

Meyer DJ, Cole B, Pemble SE, Gilmore KS, Fraser GM, Ketterer B. Theta, a new class of glutathione transferase purified from rat and man. *Biochem J* 1991; 274:409-414.

Miller AS, Dykes DD, Polerky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1998;16: 1215.

Miller DP, Liu G, De Vivo I, Lynch TJ, Wain JC, Su L, et al. Combinations of the Variant Genotypes of GSTP1, GSTM1, and p53 are Associated with an Increased Lung Cancer Risk. *Cancer Res* 2002; 62 (15): 2819-2823.

Mohr LC, Rodgers JK, Silvestri GA. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and the risk of lung cancer. *Anticancer Res* 2003; 23: 2111–2124.

Mountain C.F. Revision in the international system for staging lung cancer. *Chest* 1997; 111(6): 1711-1717.

Morita S, Yano M, Tsujinara T, Ogawa A, Taniguchi M, Kaneko K, et al. Association between genetic polymorphisms of glutathione S-transferase P1 and N- acetyltransferase 2 and susceptibility to squamous- cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer* 1998; 79:517-520.

Moscow JA, Townsend AJ, Goldsmith ME, Whang-Peng J, Vickers PJ, Poisson R et al. Isolation of the human anionic glutathione S-transferase cDNA and the relation of its gene expression to estrogen-receptor content in primary breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1988; 85: 6518-6522.

Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic Susceptibility to Squamous Cell Carcinoma of the lung in relation to Cigarette Smoking Dose. *Cancer Res* 1991; 51(1).

Nakajima T, Elovaara E, Antila S, Hirvonen A, Camus AM, Hayes JD, et al. Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis (Lond)* 1995; 16: 707-711.

Nazar-Stewart V, Vaughan TL, Stapleton P, Van Loo J, Nicol-Blades B, Eaton DL. A population-based study of glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genotypes and risk for lung cancer. *Lung Cancer* 2003; 40: 247–258.

Nebert DW. Role of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mutat Res* 1991; 247:267-281.

Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, et al. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotypes of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 1995; 16:1243-1245.

Norppa H, Hirvonen A, Järventaus H, Uusküla M, Tasa M, Ojajärvi A, et al. Role of GSTM1 and GSTT1 genotypes in determining individual sensitivity to sister chromatid exchange induction by diepoxybutane in cultured human lymphocytes. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1261-1264.

Oinonen T, Lindros KO. Zonation of hepatic cytochrome P-450 expression and regulation. *Biochem J* 1998; 329:17-35.

Ozturk O, Isbirt T, Yaylim I, Kocaturk CI, Gurses A. GSTM1 and CYP1A1 gene polymorphism and daily fruit consumption in Turkish patients with non-small cell lung carcinomas. *In Vivo* 2003 ;17(6):625-32.

Perroud MWJ. Pesquisa de mutações nos genes p53 e K-ras em pacientes com carcinoma brônquico atendidos no serviço de oncopneumologia. [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2002.

Persson T, Johansson T, Bergling H, Marja-Liisa D, Seidegad J. Genetic Polymorphism of cytochrome P450 2E1: regulation and toxicological significance. *JOEM* 1995; 7:25-36.

Pinabarsi H, Silig Y, Cetinkaya O, Seyfikli Z, Pinabarsi E. Strong association between the GSTM1-null genotype and lung cancer in a Turkish population. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 15;146(2):125-9.

Pinto LFR. Susceptibilidade ao Câncer Ligada a Genes de Baixa penetrância: Dsesafios na busca de uma Prevenção Individualizada. *Prática Hospitalar* 2007; 51: 86-90.

Pinto LFR, Felzenszwalb I. Mutagênese ambiental. *Genética do Câncer* 2003;2: 29-48.

Raunio H, Pursiainen KH, Anttila S, Hietanen E, Hirvonen A, Pelkonen O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen- activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility – a review. *Gene* 1995;159:113-121.

Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S- transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6:733-743.

Rossini A, Rapozo DCM, Amorin LMF, Macedo JMB, Medina R, Neto JFN, et al. Frequencies of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms in Brazilian population. *Genetics and Molecular Research* 2002;1(3):233-240.

Ryan DE, Levin W. Purification and characterization of hepatic microsomal cytochrome P-450. *Pharmacol Ther* 1990; 45:153-239.

Ryberg D, Skaug V, Hewer A, Philips DH, Harries LW, Wolf CR, et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis (Lond)* 1997; 18: 1285-1289.

Saarikoski ST, Viho A, Reinikainen M, Antila S, Karjalainen A, Malaveille C, et al. A. Combined effect of polymorphic GST genes on individual susceptibility to lung cancer. *Int J Cancer* 1998; 77:516-521.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SF, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239: 487-491.

Sobti RC, Sharma S, Joshi A, Jindal SK, Janmeja A. CYP1A1 and CYP2D6 polymorphism and risk of lung cancer in a North Indian population. *Biomarkers* 2003; 8:415-428.

Sobti RC, Sharma S, Joshi A, Jindal SK, Janmeja A. Genetic polymorphism of the CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer susceptibility in a north Indian population. *Mol Cell Biochem* 2004; 266:1-9.

Song N, Tan W, Xing D, Lin D. CYP1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. *Carcinogenesis* 2001; 22: 11-16.

Sorensen M, Autrup H, Tjonneland A, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer. *Int J Cancer*. 2004; 110:219-224.

Schneider J, Bernges U, Philipp M, Woitowitz HJ. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphism and lung cancer in relation to tobacco smoking. *Cancer Letters* 2004; 208(1): 65-74.

Spurr NK, Gough AC, Stevenson K, Wolf CR. MspI polymorphism detected with a cDNA probe for the P-450 I family on chromosome 15. *Nucleic Acids Res* 1987; 15: 5901.

Sreeja L, Syamala V, Hariharan S, Madhavan J, Devan SC, Ankathil R. Possible risk modification by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Gene polymorphisms in lung cancer susceptibility in a South Indian population. *J Hum Genet* 2005; 50:618-627.

Taioli E, Gaspari L, Benhamou S, Boffetta P, Brockmoller J, Butkiewicz D, et al. Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and lung cancer below the age of 45 years. *Int J Epidemiol* 2003; 32:60–63.

Tefre T, Ryberg D, Haugen A, Nebert DW, Skaung V, Brogger A, et al. Human CYP1A1 (cytochrome P450) gene: lack of association between the MspI restriction fragment length polymorphism and incidence of lung cancer in a Norwegian population. *Pharmacogenetics* 1991; 1:20-25.

To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Galan C, Firvida J, Fuentes M, Rodamilans M, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and GSTT1 polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis* 1997; 18(8): 1529-1533.

Toniolo P, Boffetta P, Shuker DEG, Rothman N, Hulka B, Pearce N. Application of Biomarkers in Cancer Epidemiology 1997. Workshop Report Lyon: International Agency for Research on Cancer Press.

Watson MA, Stewart RK, Smith GB, Massey TE, Bell DA. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis (Lond)* 1998; 19:275-280.

Webb G, Vaska V, Coggan M, Board P. Chromosomal localization of the gene for the human theta class glutathione transferase (GSTT1). *Genomics* 1996; 33: 121-123.

Wenzlaff AS, Cote ML, Bock CH, Land SJ, Schwatz AG. GSTM1, GSTT1, GSTP1 polymorphisms, environmental tobacco smoke exposure and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. *Carcinogenesis* 2005; 26(2):395-401.

World Health Organization. World Health Report: making a difference. Geneva: World Health Organization;1999.

Yang M, Choi Y, Hwangbo B, Lee JS. Combined effects of genetic polymorphisms in six selected genes on lung cancer susceptibility. *Lung Cancer* 2007; 57:135-142.

Ye Z, Song H, Higgins JP, Danesh PP. Five Glutathione S-Transferase Gene variants in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls of 130 Studies. *PLoS Med* 2006; 3(4):ed 91.

Younes RD. Câncer de Pulmão: atualização 2006. São Paulo: MBC Marketing e Editora; 2006. p.1-147.

Zambon, L. Carcinoma brônquico: análise de uma série de casos atendidos no Ambulatório de Oncopneumologia das Disciplinas de Pneumologia e Cirurgia Torácica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.[Tese Doutorado].Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, 1994.

Zambon, L, Perroud Jr. M.W, Barbeiro, A, Honma HN. Câncer de Pulmão In: Lopes, A.C. Tratado de Clínica Médica.1nd ed. São Paulo: Editora Roca Ltda; 2006. p. 3176-318.

Zamboni M. Epidemiologia do Câncer de Pulmão. *J Pneumologia* 2002; 28(1): 41-47.

Zhong S, Howie AF, Ketterer B, Taylor J, Hayes JD, Beckett GJ, et al. Glutathione S-transferase mu locus: use of genotyping and phenotyping assays to assess association with lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1533–1537.

Zhong S, Wylli AH, Barnes D, Wolf CR, Spurr NK. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and, colon cancer. *Carcinogenesis* 1993;14(9):1821-1824.



ANEXOS

Distribuição dos 200 pacientes com CP de acordo com o gênero, a etnia, a idade, o tipo histológico, o estadio, anos/ maço e tabagismo.

Pacientes	Gênero	Etnia	Idade	Tipo Histol	Estadio	Anos/maço	Tabagismo S/N
JVT	M	B	70	NPC	I+II	45	SIM
MLC	F	B	62	CPC	III+IV	NF	Não
EB	M	B	71	NPC	I+II	50	SIM
AO	M	B	51	NPC	III+IV	35	SIM
BAS	M	B	58	NPC	III+IV	30	SIM
FGF	M	B	67	CPC	III+IV	50	SIM
BPO	M	B	61	CPC	III+IV	18	SIM
ARS	M	NB	70	NPC	III+IV	NF	Não
LM	M	B	85	NPC	I+II	60	SIM
AS	M	B	64	NPC	I+II	80	SIM
BK	M	B	71	NPC	III+IV	60	SIM
JAN	M	NB	56	NPC	I+II	70	SIM
MLS	F	NB	69	NPC	III+IV	56	SIM
VFC	M	B	48	NPC	I+II	82	SIM
AMA	F	B	70	NPC	III+IV	13	SIM
BAF	M	B	63	CPC	III+IV	80	SIM
ECS	M	B	76	NPC	III+IV	75	SIM
LMS	F	NB	64	NPC	I+II	NF	Não
NGS	M	B	46	NPC	I+II	34	SIM
SJA	F	B	39	NPC	III+IV	10	SIM
IP	F	B	69	CPC	I+II	30	SIM
AF	M	NB	56	NPC	I+II	40	SIM
ACF	M	B	53	CPC	I+II	70	SIM
JLS	M	B	63	NPC	I+II	86	SIM
LPC	F	B	78	NPC	III+IV	35	SIM
MC	F	B	54	CPC	III+IV	35	SIM
MFO	M	NB	74	NPC	I+II	59	SIM
FAF	M	B	74	NPC	I+II	25	SIM
JANG	M	B	63	NPC	I+II	90	SIM
OM	M	B	76	NPC	III+IV	40	SIM
NA	M	B	62	NPC	III+IV	60	SIM
MAMD	F	B	74	NPC	III+IV	NF	Não
AFS	M	B	59	NPC	III+IV	60	SIM
BPB	F	B	62	CPC	III+IV	40	SIM
BFF	M	NB	45	NPC	III+IV	37	SIM
BAP	M	B	65	NPC	I+II	30	SIM
NP	M	B	63	NPC	III+IV	75	SIM
EAS	F	B	66	NPC	III+IV	40	SIM
LFS	F	NB	52	CPC	III+IV	30	SIM
JFF	M	NB	47	CPC	III+IV	54	SIM
MPS	M	B	66	NPC	III+IV	56	SIM
OGS	M	NB	66	NPC	III+IV	53	SIM
SABM	F	B	45	NPC	I+II	20	SIM
SFA	M	NB	72	NPC	III+IV	60	SIM
AF	M	NB	61	NPC	III+IV	50	SIM

ESS	M	B	64	NPC	I+II	25	SIM
JIDS	M	B	72	NPC	I+II	50	SIM
JOSA	M	B	53	NPC	III+IV	35	SIM
LSM	F	B	68	NPC	I+II	NF	Não
MJJC	F	B	62	NPC	III+IV	80	SIM
IT	F	B	82	NPC	III+IV	NF	Não
CCS	F	B	73	CPC	III+IV	35	SIM
ABG	M	B	62	NPC	III+IV	NF	Não
LAF	M	B	66	NPC	III+IV	100	SIM
AF	M	B	69	NPC	I+II	30	SIM
ES	M	B	67	NPC	I+II	100	SIM
MLFS	F	NB	52	NPC	I+II	30	SIM
MLO	M	B	73	NPC	III+IV	60	SIM
ND	M	B	69	NPC	III+IV	55	SIM
JBS	M	B	55	NPC	III+IV	120	SIM
AAVL	M	B	64	NPC	I+II	240	SIM
JAL	M	B	75	NPC	III+IV	120	SIM
CG	F	B	62	NPC	III+IV	80	SIM
OCTP	F	B	54	NPC	III+IV	NF	Não
GPP	M	NB	51	NPC	III+IV	33	SIM
JEP	M	B	56	NPC	III+IV	50	SIM
LCS	F	NB	75	NPC	III+IV	NF	Não
HLF	F	B	64	NPC	III+IV	115	SIM
AFL	F	B	66	NPC	I+II	NF	Não
JAO	M	B	53	NPC	III+IV	30	SIM
JC	F	B	67	NPC	I+II	NF	Não
LL	M	B	75	CPC	I+II	50	SIM
SRS	M	B	74	NPC	I+II	63	SIM
CBS	M	NB	51	NPC	III+IV	20	SIM
OR	M	B	69	NPC	III+IV	110	SIM
JRPS	M	NB	46	CPC	III+IV	33	SIM
IBC	M	B	69	NPC	I+II	45	SIM
MACF	F	B	50	NPC	III+IV	20	SIM
JPS	M	B	85	NPC	III+IV	45	SIM
AU	M	B	62	NPC	III+IV	70	SIM
LAC	M	B	56	NPC	III+IV	80	SIM
NV	M	B	51	NPC	III+IV	30	SIM
ANRF	M	B	56	CPC	III+IV	40	SIM
PP	M	B	72	NPC	I+II	60	SIM
JM	M	B	73	NPC	III+IV	65	SIM
ASC	M	NB	46	NPC	III+IV	15	SIM
AMR	M	B	51	NPC	III+IV	70	SIM
LFP	F	B	60	NPC	I+II	80	SIM
AR	M	B	71	NPC	I+II	60	SIM
ASM	F	NB	51	CPC	III+IV	70	SIM
ABS	M	NB	82	NPC	III+IV	20	SIM
JDS	M	B	57	NPC	I+II	45	SIM
CR	M	B	69	NPC	I+II	50	SIM
FRB	M	NB	57	NPC	III+IV	60	SIM
AB	M	B	58	NPC	I+II	80	SIM
LC	M	B	64	NPC	I+II	20	SIM
OVM	M	NB	68	NPC	III+IV	75	SIM
FBS	M	B	78	NPC	III+IV	50	SIM
FGF	M	B	63	NPC	I+II	80	SIM
SG	M	B	73	NPC	I+II	50	SIM
TBP	F	NB	75	NPC	I+II	NF	Não

EBS	F	B	66	NPC	I+II	15	SIM
SPF	M	B	83	NPC	I+II	15	SIM
DPQ	M	NB	51	CPC	III+IV	20	SIM
ASM	M	B	58	NPC	I+II	40	SIM
BMRC	F	NB	68	CPC	III+IV	25	SIM
HMLN	F	B	65	NPC	III+IV	15	SIM
MMS	F	NB	46	NPC	III+IV	NF	Não
DC	M	B	72	NPC	I+II	80	SIM
MG	M	B	59	NPC	III+IV	4	SIM
BAM	M	B	71	NPC	I+II	30	SIM
DAB	M	B	55	NPC	I+II	70	SIM
MFS	M	NB	77	CPC	I+II	62	SIM
RSJ	M	B	67	NPC	I+II	40	SIM
JNM	M	B	73	NPC	III+IV	60	SIM
MHB	F	B	57	NPC	I+II	20	SIM
APO	M	NB	67	NPC	III+IV	60	SIM
AGL	M	B	49	NPC	I+II	NF	Não
VD	M	B	78	NPC	I+II	56	SIM
IT	F	B	61	NPC	I+II	NF	Não
OMB	M	B	61	NPC	I+II	48	SIM
MJSP	F	NB	51	NPC	III+IV	80	SIM
GF	M	NB	69	NPC	I+II	50	SIM
BOP	M	B	73	NPC	I+II	54	SIM
JVE	M	B	62	NPC	III+IV	48	SIM
JEP	M	B	73	NPC	III+IV	110	SIM
AJM	M	B	60	NPC	III+IV	90	SIM
DGF	M	B	51	CPC	III+IV	30	SIM
EAR	M	B	73	NPC	III+IV	50	SIM
EA	M	B	68	NPC	I+II	36	SIM
BC	M	B	69	NPC	I+II	75	SIM
OCL	M	B	69	NPC	III+IV	54	SIM
AF	M	B	42	NPC	III+IV	56	SIM
PRA	M	B	52	NPC	III+IV	64	SIM
AA	F	NB	64	NPC	III+IV	80	SIM
AMGN	F	NB	61	NPC	I+II	44	SIM
BEC	M	B	67	NPC	III+IV	20	SIM
JAN	M	B	55	CPC	III+IV	50	SIM
MAS	M	B	47	NPC	III+IV	38	SIM
MAS	F	B	78	NPC	I+II	67	SIM
SM	M	B	75	NPC	III+IV	55	SIM
ERA	M	B	65	CPC	III+IV	24	SIM
MTSM	F	NB	60	NPC	III+IV	NF	Não
LCAS	M	B	48	CPC	III+IV	70	SIM
AA	M	B	79	NPC	I+II	80	SIM
MCJ	F	B	51	NPC	III+IV	80	SIM
LSCR	F	NB	61	CPC	III+IV	20	SIM
APM	F	NB	65	CPC	III+IV	56	SIM
GG	M	B	64	NPC	I+II	50	SIM
GGL	M	B	82	CPC	III+IV	116	SIM
VGA	F	B	64	NPC	III+IV	50	SIM
SEM	M	NB	73	NPC	I+II	50	SIM
AM	F	B	51	NPC	III+IV	20	SIM
MLS	F	NB	68	CPC	III+IV	1,5	SIM
DN	M	B	72	NPC	I+II	64	SIM
AB	M	B	80	CPC	III+IV	55	SIM
AAR	M	B	50	NPC	III+IV	60	SIM

MG	M	B	67	NPC	III+IV	NF	Não
JRS	M	B	72	NPC	III+IV	60	SIM
MLV	M	B	52	NPC	III+IV	30	SIM
AJ	M	B	53	NPC	III+IV	18	SIM
GBS	M	B	62	NPC	III+IV	NF	Não
JPC	M	B	79	NPC	III+IV	40	SIM
LT	M	B	76	NPC	I+II	67	SIM
LF	F	B	66	NPC	III+IV	2	SIM
JSCF	M	B	71	NPC	I+II	100	SIM
AJS	M	NB	53	NPC	III+IV	3	SIM
AF	M	B	76	NPC	III+IV	54	SIM
MSR	F	B	79	NPC	III+IV	159	SIM
WM	M	B	54	NPC	III+IV	240	SIM
SPS	M	NB	72	CPC	III+IV	90	SIM
AOS	M	B	67	NPC	III+IV	100	SIM
MTD	F	B	54	NPC	III+IV	35	SIM
KDB	M	B	54	NPC	III+IV	48	SIM
ELS	M	B	72	NPC	III+IV	30	SIM
ACB	M	NB	54	NPC	III+IV	NF	Não
NC	M	B	68	CPC	III+IV	80	SIM
MSS	F	B	52	CPC	III+IV	6	SIM
TEM	F	B	61	NPC	III+IV	45	SIM
MJDC	M	B	65	NPC	III+IV	46	SIM
FMP	M	B	66	NPC	III+IV	100	SIM
OM	M	B	68	NPC	III+IV	100	SIM
LF	M	NB	75	NPC	I+II	NF	Não
GG	M	B	73	NPC	III+IV	80	SIM
JRAC	M	B	72	NPC	I+II	40	SIM
SAP	M	B	61	NPC	III+IV	100	SIM
IGS	F	B	51	NPC	III+IV	30	SIM
DOS	M	B	56	NPC	III+IV	100	SIM
CCG	F	B	61	NPC	III+IV	NF	Não
GMP	M	B	67	NPC	I+II	45	SIM
ASD	F	B	64	NPC	III+IV	100	SIM
BRA	F	B	74	NPC	I+II	15	SIM
LMO	M	B	70	NPC	III+IV	44	SIM
JFF	M	B	60	NPC	III+IV	86	SIM
PPF	F	B	78	NPC	III+IV	200	SIM
MEMB	F	B	53	NPC	III+IV	35	SIM
AS	M	NB	64	CPC	III+IV	180	SIM
PA	M	B	74	NPC	III+IV	105	SIM
SS	M	B	64	CPC	III+IV	52	SIM
JFF	M	B	58	NPC	III+IV	100	SIM

Distribuição dos 264 controles de acordo com o gênero, a etnia, a idade e o tabagismo

Doador	Gênero	Etnia	Idade	Tabagismo S/N
MARC	F	B	57	NÃO
PBS	M	B	51	NÃO
MLVS	F	B	57	NÃO
MHPS	F	B	51	NÃO
EPT	M	NB	59	SIM
NPS	M	B	55	NÃO
NGAB	F	B	50	NÃO
MVG	M	B	57	SIM
AAG	M	B	54	SIM
FB	M	B	54	SIM
WMC	M	B	52	NÃO
JFN	M	B	59	SIM
NMJG	F	B	53	NÃO
JC	M	B	52	SIM
CD	M	B	54	NÃO
BE	M	B	53	NÃO
JAS	M	NB	51	SIM
CSF	F	B	52	NÃO
JAN	M	NB	52	NÃO
MPSL	F	B	57	NÃO
JFS	M	B	57	SIM
NS	M	NB	56	SIM
ET	M	B	55	SIM
JCAN	M	NB	53	NÃO
JRC	M	B	50	NÃO
DISD	F	B	51	SIM
JCS	M	B	50	NÃO
MSS	F	NB	57	NÃO
VO	M	B	50	SIM
MJS	M	B	53	NÃO
LTG	F	B	51	NÃO
JML	M	B	50	SIM
HJM	M	B	50	NÃO
EPA	F	B	50	NÃO
ADC	M	B	52	NÃO
BFPC	M	NB	58	NÃO
VPT	M	NB	50	NÃO
APM	M	B	56	SIM
JBBM	M	B	51	NÃO
MGB	M	B	54	NÃO
GPS	M	B	51	NÃO
JS	M	NB	50	NÃO
LTO	F	B	58	SIM
EBN	M	B	52	NÃO
UT	M	B	50	NÃO

JGAS	M	B	55	SIM
ASL	F	B	57	NÃO
DAS	M	B	53	NÃO
PAS	M	B	55	SIM
JGSS	M	B	52	NÃO
JPS	M	B	55	NÃO
JCL	M	B	53	NÃO
JMF	M	B	51	SIM
IRP	F	B	56	NÃO
LAS	F	B	56	NÃO
OM	M	B	50	NÃO
DAA	M	NB	50	NÃO
VSPF	F	B	56	SIM
JAF	M	B	59	NÃO
JAC	M	B	58	NÃO
CD	M	NB	53	NÃO
AD	M	B	52	NÃO
HCL	F	B	56	NÃO
LGO	M	B	57	SIM
WMS	M	B	57	SIM
ABS	M	B	51	NÃO
EB	M	B	56	NÃO
MABB	F	B	51	NÃO
ACF	M	B	50	SIM
TAF	F	NB	50	NÃO
ABCM	M	B	55	SIM
PNOS	M	B	56	NÃO
VA	M	B	54	NÃO
CJF	M	B	52	NÃO
LGT	M	B	59	SIM
AR	M	NB	50	SIM
EFS	M	NB	51	NÃO
VA	M	B	55	NÃO
ORP	M	B	56	NÃO
MCP	F	B	50	SIM
JAS	M	B	57	NÃO
HPL	M	NB	58	SIM
JSN	M	B	58	NÃO
AS	M	B	51	NÃO
JSFP	M	B	50	NÃO
FD	M	B	52	NÃO
SFR	M	B	56	NÃO
EFS	M	NB	52	NÃO
JPA	M	B	57	NÃO
ACB	M	B	56	NÃO
RRE	M	B	55	NÃO
NC	M	B	51	NÃO
ARP	M	B	50	NÃO
MPM	F	B	59	NÃO
RFM	M	B	58	NÃO
LC	M	B	56	SIM
ECB	F	B	50	NÃO
MJB	M	B	58	NÃO
ST	M	NB	50	NÃO
LASB	M	B	55	NÃO
OC	M	B	51	NÃO

GTL	M	B	53	NÃO
JVF	M	B	53	NÃO
CAF	M	B	51	NÃO
WF	M	B	60	SIM
GTS	M	NB	51	NÃO
JS	M	B	54	NÃO
ALF	M	B	51	NÃO
KK	M	B	56	NÃO
JPLF	M	B	52	NÃO
MS	M	B	54	SIM
CR	F	B	51	NÃO
AFDO	F	NB	59	SIM
ACSR	M	B	52	NÃO
ST	M	B	54	NÃO
ACS	M	B	50	NÃO
MFN	M	B	51	NÃO
ZF	F	B	54	SIM
ESR	M	NB	60	NÃO
FS	M	B	51	NÃO
JMHM	M	B	55	NÃO
JRS	M	B	55	NÃO
TJPR	F	B	54	SIM
LSS	M	B	53	NÃO
SPB	M	B	51	NÃO
ECL	M	B	50	SIM
DB	M	B	52	SIM
LAL	M	B	54	NÃO
AR	M	B	58	NÃO
AJ	M	B	52	NÃO
MRS	M	B	53	SIM
LG	M	B	56	NÃO
MCT	F	B	58	NÃO
SN	M	B	55	SIM
FAZ	M	B	50	NÃO
AG	M	B	52	SIM
LFS	M	B	51	NÃO
LOR	F	B	58	NÃO
MAT	F	B	52	NÃO
AB	M	B	56	NÃO
JIA	M	NB	55	NÃO
FBF	M	B	52	NÃO
RM	M	B	54	NÃO
CM	F	B	54	NÃO
DLS	F	B	56	NÃO
JVR	M	NB	54	NÃO
MBM	F	B	58	NÃO
IMLC	F	B	52	NÃO
CCP	M	B	57	SIM
TFM	F	B	53	NÃO
AMSC	F	NB	54	NÃO
JLS	M	B	52	NÃO
JAS2	M	B	51	NÃO
ASF	M	B	52	NÃO
WF	M	NB	56	NÃO
LS	M	B	52	NÃO
MJS	M	B	53	NÃO

WAC	M	B	57	NÃO
AB	M	B	50	NÃO
ALR	M	B	53	NÃO
JAS	M	NB	55	NÃO
CVS	M	NB	55	NÃO
JAR	M	B	60	NÃO
WVS	M	B	52	NÃO
JS	M	B	51	NÃO
EPI	F	B	58	NÃO
DMB	F	B	54	NÃO
JSN	M	B	59	NÃO
EAC	M	B	51	SIM
CSF	F	B	53	NÃO
MSF	M	B	59	SIM
CMC	F	B	50	NÃO
BA	F	B	55	NÃO
MSOR	F	B	54	SIM
EF	F	B	60	SIM
MPSG	F	NB	50	NÃO
GMC	F	B	58	NÃO
NRP	F	B	52	NÃO
MJC	F	B	53	NÃO
TAF	F	NB	51	NÃO
SCM	F	B	56	NÃO
MDAL	F	B	52	NÃO
DAA	F	B	53	NÃO
MVCN	M	B	55	NÃO
IZS	F	B	50	NÃO
ASS	F	B	51	NÃO
LFC	F	B	53	NÃO
MLGF	F	B	55	NÃO
MGR	F	B	56	NÃO
MCS	F	NB	56	SIM
FB	M	NB	62	SIM
UFL	M	B	78	SIM
DAC	F	B	56	NÃO
DGN	M	B	59	SIM
ADCN	F	B	59	NÃO
FFG	M	NB	53	SIM
IL	F	B	75	SIM
HAS	M	B	63	SIM
VLDM	F	B	55	SIM
LMBS	F	NB	62	NÃO
NC	M	B	62	SIM
GDB	M	B	79	SIM
MCM	F	NB	51	NÃO
MLS	F	B	60	NÃO
AMF	F	B	52	SIM
JCN	M	NB	57	SIM
AJG	M	B	79	SIM
ELS	F	B	63	SIM
ATS	F	C	64	NÃO
JPS	M	NB	64	NÃO
EP	M	B	62	SIM
ILM	F	B	58	SIM
JSD	F	B	50	NÃO

DESA	F	NB	50	SIM
BSO	M	C	57	NÃO
MTBG	F	C	54	NÃO
MSMR	F	NB	52	NÃO
LPS	F	C	77	NÃO
MJMS	F	NB	55	NÃO
ISA	F	NB	63	NÃO
JAB	M	B	72	SIM
MZ	M	B	76	SIM
MLS	F	NB	68	SIM
NSD	F	B	53	SIM
IFL	F	B	63	SIM
JAC	M	B	52	SIM
DFCA	F	NB	62	NÃO
PFC	M	B	58	SIM
MCPP	F	NB	50	NÃO
MLB	F	B	54	SIM
ESF	M	NB	50	SIM
JBC	M	NB	61	SIM
BAS	M	NB	53	SIM
VP	M	B	68	SIM
JAB	M	B	51	NÃO
JDF	M	B	52	NÃO
JAO	M	NB	55	SIM
RM	F	B	52	SIM
MAV	F	B	74	NÃO
FWCO	M	B	61	SIM
MFS	F	NB	52	SIM
FM	F	B	78	SIM
ESF	M	B	54	SIM
MMS	F	B	56	NÃO
JM	M	B	63	SIM
LSS	F	B	66	NÃO
JPC	F	B	75	NÃO
LDG	F	B	78	NÃO
SV	F	B	61	SIM
ACDG	F	B	52	NÃO
CBL	F	B	56	SIM
EMF	F	B	53	SIM
IMV	F	B	50	NÃO
LAS	F	B	53	SIM
MCBF	F	B	56	NÃO
MDS	F	NB	54	NÃO
MFRV	F	B	51	SIM
MLAC	F	B	54	SIM
MLSL	F	B	56	NÃO
OPS	F	B	57	NÃO
SBSF	F	B	55	SIM
TABM	F	B	53	NÃO
VSC	F	NB	58	NÃO
ZVS	F	B	56	NÃO

Genotipagem dos genes polimórficos *GSTP1*B*, *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1*2A* em
pacientes com CP.

Pacientes	<i>GSTP1*B</i>	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>CYP1*2A</i>
JVT	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MLC	Ile/Val	presente	presente	SELV
EB	Ile/Val	presente	presente	SELV
AO	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
BAS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
FGF	Ile/Ile	presente	presente	SELV
BPO	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ARS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
LM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
AS	Val/Val	presente	presente	HETERO
BK	Ile/Val	presente	presente	SELV
JAN	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MLS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
VFC	Ile/Val	presente	presente	SELV
AMA	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
BAF	Ile/Val	presente	presente	SELV
ECS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
LMS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
NGS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
SJA	Ile/Val	presente	presente	SELV
IP	Val/Val	nulo	presente	HETERO
AF	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
ACF	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JLS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
LPC	Val/Val	nulo	presente	SELV
MC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MFO	Val/Val	presente	nulo	HETERO
FAF	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
JANG	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
OM	Ile/Ile	presente	presente	SELV
NA	Ile/Val	presente	presente	SELV
MAMD	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
AFS	Val/Val	presente	presente	HETERO
BPB	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
BFF	Ile/Val	presente	presente	SELV
BAP	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
NP	Ile/Ile	presente	presente	SELV
EAS	Val/Val	nulo	presente	SELV
LFS	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
JFF	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MPS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
OGS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
SABM	Ile/Val	presente	presente	SELV
SFA	Ile/Val	presente	presente	HETERO
AF	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE

ESS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JIDS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JOSA	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
LSM	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MJJC	Ile/Val	presente	nulo	SELV
IT	Ile/Val	presente	presente	SELV
CCS	Val/Val	presente	presente	HETERO
ABG	Ile/Val	presente	presente	SELV
LAF	Ile/Val	presente	presente	HETERO
AF	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
ES	Ile/Ile	presente	presente	SELV
MLFS	Ile/Ile	presente	presente	SELV
MLO	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
ND	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
JBS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
AAVL	Val/Val	presente	presente	SELV
JAL	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
CG	Ile/Val	presente	presente	SELV
OCTP	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
GPP	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
JEP	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
LCS	Ile/Val	presente	presente	SELV
HLF	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
AFL	Ile/Val	presente	presente	SELV
JAO	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
JC	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
LL	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
SRS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
CBS	Ile/Val	nulo	presente	MUTANTE
OR	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
JRPS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
IBC	Val/Val	nulo	presente	SELV
MACF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JPS	Val/Val	nulo	presente	HETERO
AU	Ile/Val	presente	nulo	SELV
LAC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
NV	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
ANRF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
PP	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JM	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
ASC	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
AMR	Ile/Val	presente	presente	SELV
LFP	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
AR	Ile/Ile	presente	presente	SELV
ASM	Ile/Val	presente	nulo	HETERO
ABS	Ile/Val	presente	presente	MUTANTE
JDS	Val/Val	nulo	nulo	HETERO
CR	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
FRB	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AB	Ile/Ile	presente	presente	SELV
LC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
OVM	Ile/Ile	presente	presente	SELV
FBS	Ile/Val	presente	presente	SELV
FGF	Ile/Ile	presente	presente	SELV
SG	Ile/Ile	presente	presente	SELV
TBP	Val/Val	nulo	presente	SELV

EBS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
SPF	Ile/Val	presente	presente	HETERO
DPQ	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ASM	Val/Val	presente	presente	SELV
BMRC	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
HMLN	Ile/Ile	presente	presente	SELV
MMS	Val/Val	nulo	presente	SELV
DC	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
MG	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
BAM	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
DAB	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MFS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
RSJ	Ile/Val	presente	presente	SELV
JNM	Ile/Val	presente	presente	SELV
MHB	Val/Val	presente	presente	MUTANTE
APQ	Ile/Val	presente	presente	HETERO
AGL	Ile/Val	presente	presente	SELV
VD	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
IT	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
OMB	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
MJSP	Ile/Val	nulo	presente	SELV
GF	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
BOP	Val/Val	presente	presente	SELV
JVE	Ile/Ile	presente	presente	SELV
JEP	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
AJM	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
DGF	Ile/Ile	nulo	presente	MUTANTE
EAR	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
EA	Ile/Ile	presente	presente	SELV
BC	Ile/Val	nulo	presente	SELV
OCL	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
AF	Ile/Val	presente	presente	SELV
PRA	Val/Val	nulo	presente	SELV
AA	Ile/Val	nulo	nulo	HETERO
AMGN	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
BEC	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JAN	Ile/val	nulo	nulo	SELV
MAS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MAS	Ile/Val	presente	presente	SELV
SM	Ile/Ile	nulo	presente	MUTANTE
ERA	Val/Val	presente	nulo	HETERO
MTSM	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
LCAS	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
AA	Ile/Val	presente	presente	SELV
MCJ	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
LSCR	Ile/Val	presente	presente	HETERO
APM	Ile/Val	presente	nulo	SELV
GG	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
GGL	Ile/Ile	presente	presente	SELV
VGA	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
SEM	Ile/Val	presente	presente	SELV
AM	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MLS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
DN	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AB	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
AAR	Ile/Ile	nulo	nulo	HETERO

MG	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JRS	Ile/Val	presente	presente	SELV
MLV	Ile/Val	presente	presente	SELV
AJ	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
GBS	Val/Val	presente	presente	SELV
JPC	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
LT	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
LF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JSCF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
AJS	Val/Val	presente	presente	SELV
AF	Val/Val	nulo	presente	SELV
MSR	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
WM	Ile/Ile	presente	presente	SELV
SPS	Ile/Val	presente	presente	MUTANTE
AOS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MTD	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
KDB	Ile/Ile	presente	presente	SELV
ELS	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
ACB	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
NC	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MSS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
TEM	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MJDC	Ile/Val	presente	presente	SELV
FMP	Val/Val	presente	nulo	SELV
OM	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
LF	Ile/Val	presente	presente	HETERO
GG	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JRAC	Ile/Val	presente	presente	SELV
SAP	Ile/Ile	presente	presente	SELV
IGS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
DOS	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
CCG	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
GMP	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
ASD	Val/Val	nulo	presente	HETERO
BRA	Ile/Val	nulo	presente	SELV
LMO	Val/Val	presente	presente	SELV
JFF	Ile/Val	presente	nulo	SELV
PPF	Ile/Ile	presente	presente	SELV
MEMB	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
PA	Val/Val	nulo	presente	SELV
SS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JFF	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO

Genotipagem dos genes polimórficos *GSTP1*B*, *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1*2A* em controles:

Doador	<i>GSTP1*B</i>	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>CYP1*2A</i>
MARC	Val/Val	nulo	presente	SELV
PBS	Val/Val	nulo	presente	HETERO
MLVS	Ile/Val	presente	presente	SELV
MHPS	Val/Val	presente	presente	SELV
EPT	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
NPS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
NGAB	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MVG	Ile/Val	nulo	presente	SELV
AAG	Val/Val	presente	presente	SELV
FB	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
WMC	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JFN	Ile/Val	presente	presente	SELV
NMJG	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
JC	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
CD	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
BE	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JAS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
CSF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JAN	Val/Val	presente	nulo	SELV
MPSL	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
JFS	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
NS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ET	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JCAN	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
JRC	Ile/Ile	presente	presente	SELV
DISD	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JCS	Ile/Val	presente	nulo	SELV
MSS	Ile/Ile	presente	presente	SELV
VO	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MJS	Ile/Val	presente	presente	MUTANTE
LTG	Ile/Val	presente	presente	SELV
JML	Ile/Val	nulo	presente	SELV
HJM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
EPA	Ile/Val	nulo	nulo	HETERO
ADC	Val/Val	nulo	presente	HETERO
BFPC	Ile/Val	presente	presente	HETERO
VPT	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
APM	Ile/Ile	nulo	presente	MUTANTE
JBBM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MGB	Ile/Val	nulo	presente	HETERO

GPS	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
JS	Ile/Val	presente	presente	SELV
LTO	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
EBN	Ile/Val	presente	presente	HETERO
UT	Ile/Val	presente	presente	SELV
JGAS	Ile/Val	presente	nulo	HETERO
ASL	Ile/Val	presente	nulo	MUTANTE
DAS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
PAS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JGSS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JPS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JCL	Ile/Val	presente	nulo	SELV
JMF	Ile/Val	presente	presente	SELV
IRP	Ile/Val	presente	presente	HETERO
LAS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
OM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
DAA	Val/Val	nulo	nulo	SELV
VSPF	Ile/Val	nulo	nulo	SELV
JAF	Val/Val	presente	presente	SELV
JAC	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
CD	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AD	Ile/Ile	presente	presente	SELV
HCL	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
LGO	Ile/Val	nulo	presente	SELV
WMS	Ile/Val	presente	presente	SELV
ABS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
EB	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
MABB	Ile/Val	presente	presente	SELV
ACF	Val/Val	presente	nulo	SELV
TAF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ABCM	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
PNOS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
VA	Ile/Ile	presente	presente	SELV
CJF	Ile/Val	presente	nulo	SELV
LGT	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AR	Ile/Val	nulo	presente	SELV
EFS	Ile/Val	presente	nulo	SELV
VA	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ORP	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
MCP	Val/Val	presente	nulo	SELV
JAS	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
HPL	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
JSN	Ile/Ile	presente	presente	SELV
AS	Ile/Val	presente	nulo	SELV
JSFP	Ile/Val	presente	presente	HETERO
FD	Val/Val	presente	presente	SELV
SFR	Ile/Val	presente	presente	SELV
EFS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JPA	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
ACB	Ile/Val	presente	presente	SELV
RRE	Ile/Ile	presente	presente	HETERO

NC	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
ARP	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MPM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
RFM	Ile/Ile	presente	presente	SELV
LC	Val/Val	nulo	nulo	SELV
ECB	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MJB	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
ST	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
LASB	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
OC	Ile/Val	presente	presente	HETERO
GTL	Val/Val	presente	presente	SELV
JVF	Ile/Val	presente	presente	HETERO
CAF	Ile/Ile	presente	presente	SELV
WF	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
GTS	Val/Val	presente	presente	HETERO
JS	Ile/Val	nulo	presente	MUTANTE
ALF	Ile/Val	presente	presente	SELV
KK	Val/Val	presente	nulo	SELV
JPLF	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
CR	Val/Val	nulo	presente	HETERO
AFDO	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ACSR	Val/Val	presente	presente	SELV
ST	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ACS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MFN	Ile/Val	presente	presente	SELV
ZF	Ile/Val	presente	presente	SELV
ESR	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
FS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JMHM	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JRS	Ile/Val	presente	nulo	SELV
TJPR	Ile/Val	nulo	presente	SELV
LSS	Ile/Val	nulo	nulo	HETERO
SPB	Ile/Val	presente	presente	SELV
ECL	Ile/Ile	presente	presente	SELV
DB	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
LAL	Ile/Val	presente	presente	HETERO
AR	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
AJ	Ile/Ile	presente	presente	SELV
MRS	Val/Val	presente	presente	SELV
LG	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MCT	Ile/Ile	nulo	nulo	HETERO
SN	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
FAZ	Ile/Val	nulo	presente	SELV
AG	Ile/Ile	presente	presente	SELV
LFS	Ile/Val	presente	presente	SELV
LOR	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MAT	Ile/Val	presente	presente	SELV
AB	Ile/Val	presente	presente	SELV
JIA	Ile/Val	presente	presente	SELV
FBF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV

RM	Ile/Ile	presente	presente	SELV
CM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
DLS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JVR	Val/Val	presente	presente	SELV
MBM	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
IMLC	Ile/Ile	presente	nulo	HETERO
CCP	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
TFM	Ile/Val	presente	nulo	SELV
AMSC	Val/Val	presente	presente	HETERO
JLS	Ile/Val	presente	presente	SELV
JAS2	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
ASF	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
WF	Val/Val	nulo	presente	SELV
LS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
MJS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
WAC	Val/Val	presente	presente	HETERO
AB	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
ALR	Ile/Val	presente	presente	SELV
JAS	Val/Val	presente	presente	MUTANTE
CVS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
JAR	Val/Val	presente	presente	SELV
WVS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
JS	Val/Val	nulo	nulo	SELV
EPI	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
DMB	Ile/val	presente	nulo	HETERO
JSN	Ile/Ile	presente	presente	SELV
EAC	Ile/val	presente	presente	HETERO
CSF	Ile/Val	presente	presente	SELV
MSF	Ile/Ile	presente	presente	SELV
CMC	Ile/Ile	presente	presente	SELV
BA	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MSOR	Ile/Val	presente	presente	HETERO
EF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MPSG	Ile/Val	presente	nulo	SELV
GMC	Ile/Ile	presente	presente	SELV
NRP	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
MJC	Ile/Ile	presente	nulo	SELV
TAF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
SCM	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MDAL	Ile/Ile	nulo	nulo	SELV
DAA	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MVCN	Ile/Ile	presente	presente	SELV
IZS	Ile/Ile	presente	presente	SELV
ASS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
LFC	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MLGF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MGR	Ile/Val	presente	presente	SELV
MCS	Ile/Ile	presente	presente	SELV
FB	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
UFL	Ile/Val	presente	presente	SELV
DAC	Ile/Val	presente	presente	HETERO

DGN	Val/Val	presente	presente	HETERO
ADCN	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
FFG	Ile/Ile	presente	presente	SELV
IL	Ile/Val	presente	presente	SELV
HAS	Ile/Val	presente	presente	HETERO
VLDM	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
LMBS	Val/Val	nulo	presente	HETERO
NC	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
GDB	Ile/Val	presente	presente	HETERO
MCM	Ile/Val	presente	presente	SELV
MLS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
AMF	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
JCN	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE
AJG	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
ELS	Ile/Ile	presente	presente	SELV
ATS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JPS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
EP	Ile/Val	nulo	presente	SELV
ILM	Ile/Val	presente	presente	SELV
JSD	Ile/Val	presente	presente	SELV
DESA	Val/Val	nulo	presente	HETERO
BSO	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MTBG	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MSMR	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
LPS	Ile/Val	presente	presente	SELV
MJMS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
ISA	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
JAB	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
MZ	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MLS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
NSD	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
IFL	Ile/Val	presente	presente	SELV
JAC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
DFCA	Ile/Val	presente	presente	HETERO
PFC	Ile/Val	presente	presente	SELV
MCP	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MLB	Ile/Val	presente	presente	SELV
ESF	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JBC	Ile/Val	presente	presente	SELV
BAS	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
VP	Val/Val	presente	presente	SELV
JAB	Ile/Ile	presente	presente	SELV
JDF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
JAO	Ile/Val	presente	presente	SELV
RM	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MAV	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
FWCO	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MFS	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
FM	Ile/Val	nulo	presente	MUTANTE
ESF	Ile/Val	presente	presente	SELV
MMS	Ile/Ile	presente	presente	MUTANTE

JM	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
LSS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
JPC	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
LDG	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
SV	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
ACDG	Ile/Val	nulo	presente	SELV
CBL	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
EMF	Ile/Val	nulo	presente	HETERO
IMV	Ile/Val	presente	presente	SELV
LAS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MCBF	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
MDS	Ile/Val	nulo	presente	SELV
MFRV	Val/Val	nulo	presente	SELV
MLAC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
MLSL	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO
OPS	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
SBSF	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
TABM	Ile/Ile	presente	presente	HETERO
VSC	Ile/Ile	nulo	presente	SELV
ZVS	Ile/Ile	nulo	presente	HETERO

Carta de consentimento pós – informação a ser obtida dos pacientes, para participação no estudo intitulado “Influência dos Polimorfismos dos Genes CYP1A1*2A, GSTM1, GSTT1, GSTP1*B e do Gene p53 (Códon 72) na Susceptibilidade ao Câncer de Pulmão”

Nome do paciente: **Idade:**.....

anos **RG:**..... **HC:**.....

Endereço:.....

.....

.....

Nome do responsável legal (se paciente incapacitado):

.....

RG:..... **Grau de parentesco:**.....

Endereço:.....

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei uma amostra de sangue (volume: 12 ml) a ser colhida em veia de um dos braços. Estou ciente de que este sangue será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer de pulmão. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização destes exames. Estou ciente que serei avisado por carta ou telefone se for constatado que apresentei a predisposição genética ao câncer de pulmão. Essa é uma área que está em grande evolução, portanto, caso eu permita, o material restante poderá ser utilizado para novos estudos genéticos na doença. Sei que qualquer outro estudo que utilize esse material, primeiro deverá ser aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Sei que posso sair do estudo a

qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu tratamento na UNICAMP. Sei ainda, que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar o Prof. Dr. Lair Zambon, na Disciplina de Pneumologia, Tel: 3521-8916, 3521-7907. Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP, Tel: 3521- 8936. Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.

.....
Assinatura do paciente

..... **Assinatura do responsável legal**

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas,..... / /



Carta de consentimento pós – informação a ser obtida dos indivíduos controle, para participação no estudo intitulado “Influência dos Polimorfismos dos Genes CYP1A1*2A, GSTM1, GSTT1, GSTP1*B e do Gene p53 (Códon 72) na Susceptibilidade ao Câncer de Pulmão”

Nome:.....**RG:**

..... **Etnia:** **Idade:** anos

Endereço residencial:

.....

Endereço comercial:.....

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei informações sobre a ocorrência de câncer de pulmão em meus familiares e uma amostra de sangue a ser colhida em veia de um dos braços (volume: 12 ml). Estou ciente que este material será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer de pulmão. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização deste exame. Estou ciente que serei avisado por carta ou telefone se for constatado que apresentei a predisposição genética ao câncer de pulmão. Essa é uma área que está em grande evolução, portanto, caso eu permita, o material restante poderá ser utilizado para novos estudos genéticos na doença. Sei que qualquer outro estudo que utilize esse material, primeiro deverá ser aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Sei que posso sair do estudo a qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu atendimento na UNICAMP. Sei ainda, que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar o Prof. Dr. Lair Zambon, na Disciplina de pneumologia, Tel:

3521-8916 e 3521-7907. Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP. Tel: 3521-8936. Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.

OBS: desejo receber a informação que tenho uma predisposição genética ao câncer de pulmão? ____sim ____ não

.....
Assinatura do paciente

.....
Assinatura do responsável legal

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas,..... / /

Quadro 1 – Sistema TNM: característica do tumor (T)

T 0	Sem evidência de tumor primário.
T X	Tumor primário não pode ser avaliado ou tumor comprovado pela presença de células malignas em escarro ou em lavado brônquico mas não visualizado por imagens ou broncoscopia.
T IS	Carcinoma <i>in situ</i> .
T 1	Tumor < 3 cm em sua maior dimensão, cercado por pulmão ou pleura visceral, sem evidência broncoscópica que comprove invasão mais proximal que um brônquio lobar (i.e., não no brônquio principal).
T 2	Tumor com quaisquer das seguintes características de tamanho e extensão: ☐ > 3 cm na sua maior dimensão ☐ Envolve brônquio principal, > 2 cm distalmente à carina ☐ Invade pleura visceral. ☐ Associado à atelectasia ou pneumonite obstrutivas que se estende à região hilar, mas não envolve todo um pulmão.
T 3	Tumor de qualquer tamanho que diretamente invade qualquer das seguintes estruturas: parede torácica (incluindo o tumor de sulco superior), diafragma, pleura mediastinal, pericárdio parietal; tumor no brônquio principal < 2 cm distal à carina, mas sem envolvimento da carina ou tumor associado à atelectasia ou pneumonite obstrutiva de todo um pulmão.
T 4	Tumor de qualquer tamanho que invade: mediastino, coração, grandes vasos, traquéia, esôfago, corpo vertebral, carina; tumor com derrame pleural ou pericárdico maligno, ou com nódulo satélite ao tumor no mesmo lobo do tumor primário (ipsilateral).

Quadro 2 – Sistema TNM: característica dos linfonodos (N)

N 0	Sem metástases em linfonodos regionais.
N 1	Metástases para linfonodos peribronquiais e/ou hilares ipsilaterais, e nódulos intrapulmonares envolvidos por extensão direta do tumor primário.
N 2	Metástases para linfonodos mediastinais e/ou subcarinais ipsilaterais.
N 3	Metástases para linfonodos mediastinais contralaterais, hilares contralaterais, ipsilaterais ou contralaterais escalênicos ou supra-claviculares. (s).

Quadro 3 – Sistema TNM: características das metástases (M)

MO	Metástases distantes não conhecidas.
M1	Metástases distantes presentes com sítio especificado (ex.: cérebro).

Distribuição do Sistema TNM por Estádios

Estádio	TX	NX	MX
Carcinoma Oculto	X	?	?
Estádio 0	Is		
Estádio I a	1	0	0
Estádio I b	2	0	0
Estádio II a	1	1	0
Estádio II b	2	1	0
	3	0	0
Estádio III a	3	1	0
	1 - 3	2	0
Estádio III b	Qualquer T	3	0
	T4	Qualquer N	0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	1