

Sandro Nunes Angelo

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS T6235C e A4889G,
DO GENE *CYP1A1*, E DOS HAPLÓTIPOS NAT1*3, NAT1*4
E NAT1*10 DO GENE *NAT1*, ASSOCIADOS COM O
METABOLISMO DE CARCINÓGENOS, NA
SUSCEPTIBILIDADE AO ADENOCARCINOMA
COLORRETAL ESPORÁDICO**

Campinas

UNICAMP

2008

Sandro Nunes Angelo

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS T6235C e A4889G,
DO GENE *CYP1A1*, E DOS HAPLÓTIPOS NAT1*3, NAT1*4
E NAT1*10 DO GENE *NAT1*, ASSOCIADOS COM O
METABOLISMO DE CARCINÓGENOS, NA
SUSCEPTIBILIDADE AO ADENOCARCINOMA
COLORRETAL ESPORÁDICO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do **Título de Mestre** em Cirurgia

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima

Co-Orientador: Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy

Campinas

UNICAMP

2008

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

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

An43i Angelo, Sandro Nunes
Influência dos polimorfismos T6235C e A4889G, do gene *CYP1A1*, e dos haplótipos NAT1*3, NAT1*4 e NAT1*10 do gene *NAT1*, associados com o metabolismo de carcinógenos, na susceptibilidade ao adenocarcinoma colorretal esporádico / Sandro Nunes Ângelo .
Campinas, SP : [s.n.], 2008.

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

1. Polimorfismo. 2. Haplótipo. I. Lima, Carmen Silvia Passos.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Influence of T6235C and A4889G polymorphisms of the CYP1A1 gene, and NAT1*3, NAT1*4 e NAT1*10 haplotypes of the NAT1 gene, associated with the carcinogens metabolism, in the susceptibility of the sporadic colorectal adenocarcinoma

Keywords: • Polymorphism
• Haplotype

Titulação: Mestre em Cirurgia
Área de concentração: Cirurgia

Banca examinadora:

Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima
Prof. Dr. João José Fagundes
Prof. Dr. Luiz Henrique Cury Saad

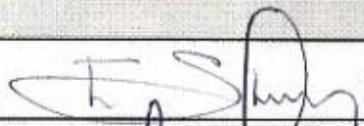
Data da defesa: 30 - 04 - 2008

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado
Sandro Nunes Angelo

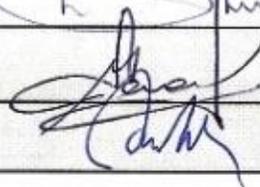
Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Carmen Silvia Passos Lima

Membros:

1. Prof^ª. Dr^ª. Carmen Silvia Passos Lima



2. Prof. Dr. Luiz Henrique Cury Saad



3. Prof. Dr. João José Fagundes

Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/04/2008

“O que me preocupa não é o grito dos maus. É o silêncio dos bons.”

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Carmen Sílvia Passos Lima**, pela orientação, apoio e amizade, sem os quais não teria terminado minha dissertação.

Ao **Prof. Dr. Juvenal Ricardo Navarro Góes** (*in memoriam*), pela confiança, orientação, incentivo, amizade e apoio. Seu exemplo de dedicação e amor à ciência foi determinante para conclusão deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Cláudio Saddy Rodrigues Coy**, pela orientação, amizade e incentivo no desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. João José Fagundes**, pelo apoio e incentivo no desenvolvimento deste trabalho.

À nutricionista **Daniélla Magro**, pela orientação, amizade e incentivo na realização deste trabalho.

À **Profa. Dra. Maria de Lourdes** e à **Dra. Raquel Franco Leal**, pela amizade, carinho e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Gustavo**, à **Helvia**, à **Gabriela**, à **Iramaia**, à **Laura**, à **Luciana**, ao **Anderson**, à **Ana Paula**, à **Cristiane**, à **Manoela**, ao **Eliel** e à **Marcela**, do Laboratório de Genética do Câncer da FCM da Unicamp, pela ajuda e amizade inestimáveis, fundamentais no desenvolvimento do meu trabalho.

A **todos os funcionários** dos ambulatórios de Coloproctologia e Oncologia Clínica, e da enfermaria de Gastrocirurgia, pela ajuda na coleta de sangue dos pacientes.

À **Fernanda**, à **Melissa**, à **Thaís**, ao **Wilson**, ao **Nícolas**, à **Marcela**, à **Aliny**, à **Junka** e à **Marcela**, do Laboratório de Fisiologia Anorretal, pela amizade e apoio na realização deste projeto.

Ao **Dr. Santos Coy**, ao **Dr. Celso de Oliveira**, ao **Dr. André Pierro** e ao **Dr. Michel Gardere**, integrantes da equipe de Cirurgia da Casa de Saúde Campinas, pela ajuda nas atividades rotineiras.

A **todos os pacientes** que, mesmo na angústia da incerteza, colaboraram para a realização deste trabalho.

À **minha mãe Alice**, ao **meu irmão Fábio**, à **minha irmã Paula** e a **todos os meus familiares**, pelo apoio incondicional, sem o qual eu não teria chegado até aqui.

**A realização deste estudo contou com o apoio da
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
Auxílio Pesquisa: Processo no 04/06319-0**

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ix
SUMÁRIO.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xix
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT	xxiii
INTRODUÇÃO.....	25
1. Considerações gerais	27
2. Aspectos clínicos	28
3. Aspectos ambientais.....	30
4. Aspectos genéticos.....	31
4.1. Gene <i>CYP1A1</i>	32
4.2. Gene <i>NAT1</i>	33
OBJETIVOS	37
CASUÍSTICA E MÉTODOS	41
1. Avaliação clínica	43
2. Avaliação do tumor	45
3. Análise molecular dos genes <i>CYP1A1</i> e <i>NAT1</i>	48
3.1. Extração do DNA a partir dos leucócitos.....	48
3.2. Identificação dos genótipos dos polimorfismos do gene <i>CYP1A1</i>	49
3.3. Identificação dos haplótipos do gene <i>NAT1</i>	51
4. Aspectos éticos.....	54
5. Análise estatística	55
RESULTADOS	57
1. Avaliação clínica	59
2. Avaliação do tumor	67
3. Análise molecular do gene <i>CYP1A1</i>	69
3.1. Polimorfismo T6235C em pacientes e controles.....	69
3.2. Polimorfismo T6235C e aspectos clínicos de pacientes.....	79
3.3. Polimorfismo T6235C e aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor ..	83
3.4. Polimorfismo A4889G em pacientes e controles	85

3.5. Polimorfismo A4889G e aspectos clínicos.....	95
3.6. Polimorfismo A4889G aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor ...	100
4. Análise molecular do gene <i>NAT1</i>	102
4.1. Haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 em pacientes e controles	102
4.2. Haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10, do gene <i>NAT1</i> , e aspectos clínicos..	114
4.3. Haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 e aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	118
DISCUSSÃO	121
CONCLUSÕES.....	137
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	141
ANEXOS.....	155

LISTA DE ABREVIATURAS

µl	Microlitro
A4889G	Polimorfismo do gene <i>CYP1A1</i>
AA	Aminas aromáticas
ACE	Adenocarcinoma colorretal esporádico
CC	Câncer colorretal
CEA	Antígeno cárcino-embrionário
<i>CYP1A1</i>	Gene citocromo P450 1A1
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Deoxirribonucleotídeo
DP	Desvio padrão
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
g	Grama
HAP	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
HCl	Ácido clorídrico
IC	Intervalo de confiança
mg	Miligrama
MgCl₂	Cloreto de magnésio
ml	Mililitro
mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de sódio
<i>NAT1</i>	Gene N-acetiltransferase 1
NAT1*10	Haplótipo NAT1*10 do gene <i>NAT1</i>
NAT1*3	Haplótipo NAT1*3 do gene <i>NAT1</i>
NAT1*4	Haplótipo NAT1*4 do gene <i>NAT1</i>
OR	Razão das chances
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
rpm	Rotações por minuto
SDS	Sódio dodecil sulfato
T6325C	Polimorfismo do gene <i>CYP1A1</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Tumor colorretal ulcerado em cólon sigmóide	29
Figura 2:	Representação esquemática da estrutura dos haplótipos NAT1*4 e NAT1*10	35
Figura 3:	Representação esquemática do número de porções diárias dos diferentes grupos de alimentos preconizados para a população brasileira (pirâmide alimentar brasileira).....	45
Figura 4:	Eletoforese em gel de agarose 2% dos fragmentos obtidos após a amplificação de fragmento do gene CYP1A1, que contém o polimorfismo T6235C, por meio da reação em cadeia da polimerase	70
Figura 5:	Produtos da digestão enzimática com a enzima Msp I para a identificação dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene CYP1A1, em gel de agarose 2%	71
Figura 6:	Eletoforese em gel de agarose 2% dos fragmentos obtidos após a amplificação de parte do gene CYP1A1, que contém o polimorfismo A4889G, por meio da reação em cadeia da polimerase.....	86
Figura 7:	Produtos da digestão enzimática com a enzima BsrD I para a identificação dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene CYP1A1, em gel de agarose 2%	87
Figura 8:	Eletoforese em gel de agarose 2% dos fragmentos obtidos após a amplificação de fragmento do gene NAT1 por meio da reação em cadeia da polimerase	103
Figura 9:	Produtos da digestão enzimática com a enzima Mbo I para a identificação dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene NAT1, em gel de agarose 4%	104
Figura 10:	Eletoforese em gel de agarose 2% dos produtos obtidos após a realização da reação em cadeia da polimerase alelo-específica para identificação do haplótipo NAT1*3	105
Figura 11:	Eletoforese em gel de agarose 2% dos produtos obtidos após a realização da reação em cadeia da polimerase alelo-específica para identificação do haplótipo NAT1*10	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Crítérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer colorretal.....	46
Tabela 2:	Grupos de estágios e características TNM do câncer colorretal	47
Tabela 3:	Distribuições dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com a idade, o sexo, a raça e o hábito do tabagismo e do etilismo	60
Tabela 4:	Distribuições dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico em relação ao padrão dietético, de acordo com os valores de referência da pirâmide alimentar brasileira	62
Tabela 5:	Distribuições dos 169 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e dos 101 jucontroles de acordo com o padrão dietético estabelecido com bases nas referências da pirâmide alimentar brasileira.....	64
Tabela 6:	Distribuições dos 169 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e 101 controles de acordo com o consumo médio dos diferentes tipos de carnes	66
Tabela 7:	Distribuição dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com a localização, o grau de diferenciação e o estágio TNM do tumor	68
Tabela 8:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles	72
Tabela 9:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de carnes.....	74
Tabela 10:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de verduras e leguminosas.....	76
Tabela 11:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de frutas.....	78
Tabela 12:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em adenocarcinoma colorretal esporádico estratificados por aspectos clínicos....	80
Tabela 13:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes estratificados por padrão dietético	82

Tabela 14:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	84
Tabela 15:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles	88
Tabela 16:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de carnes	90
Tabela 17:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de verduras e leguminosas	92
Tabela 18:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de frutas	94
Tabela 19:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes estratificados por aspectos clínicos	96
Tabela 20:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes estratificados por padrão dietético	98
Tabela 21:	Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	101
Tabela 22:	Freqüências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles	107
Tabela 23:	Freqüências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de carnes	109
Tabela 24:	Freqüências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3, NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de verduras e leguminosas	111
Tabela 25:	Freqüências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3, NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes e controles estratificados por consumo de frutas	113
Tabela 26:	Freqüências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes estratificados por aspectos clínicos	115
Tabela 27:	Freqüências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes estratificados por padrão dietético	117
Tabela 28:	Freqüências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NT1*10 do gene <i>NAT1</i> em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	119

RESUMO

A exposição das células do cólon e do reto a substâncias carcinogênicas está associada ao consumo de alimentos que constituam fonte de substratos, como aminas aromáticas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Enzimas como a mono-oxigenase do citocromo P450, codificada pelo gene *CYP1A1* e a N-acetiltransferase, codificada pelo gene *NAT1*, estão relacionadas com o metabolismo dessas substâncias. Os polimorfismos T6235C e A4889G, do gene *CYP1A1*, e o haplótipo NAT1*10, do gene *NAT1*, foram associados ao risco do câncer colorretal (CC) em indivíduos do hemisfério norte. Não há descrições sobre as influências desses polimorfismos no risco do CC em nossa população, sendo este o objetivo do estudo. O DNA de 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico (ACE) e 255 controles foi analisado por meio da reação em cadeia da polimerase e digestão enzimática. Foi avaliado também, o padrão dietético de pacientes e controles por meio do recordatório de frequência alimentar. Houve risco maior de ocorrência do ACE em indivíduos com os genótipos variantes dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* e com consumo excessivo de carnes. A frequência do haplótipo NAT1*10 foi maior em pacientes do que em controles, havendo risco maior de ocorrência do ACE nesses indivíduos. Maior risco de ocorrência da doença foi também observado em indivíduos com os haplótipos NAT1*10 do gene *NAT1* e consumo excessivo de carnes e escasso de verduras e frutas. Os resultados deste estudo sugerem que as vias herdadas do metabolismo de carcinógenos, *CYP1A1* e *NAT1*, associadas ao padrão da dieta influenciam o risco de ocorrência do ACE em nosso meio.

ABSTRACT

The exposure of the cells of the colon and rectum to carcinogenic substances is associated with the consumption of foods that are source of substrates, such as aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons. Enzymes such as cytochrome P450 monooxygenase, encoded by the *CYP1A1* gene, and acetyltransferase, encoded by the *NAT1* gene, are related to the metabolism of these substances. T6235C and A4889G polymorphisms, of the *CYP1A1* gene, and NAT1*10 haplotype of the gene *NAT1* were associated with incidence of colorectal cancer (CC). There are no descriptions about the influences of these polymorphisms on the risk for the CC in our population, which is the objective of the study. DNA from 254 sporadic colorectal adenocarcinoma (SCA) patients and 255 controls were analysed by polymerase chain reaction and restriction digestion. It was also assessed the dietary pattern patients and controls through the recall of food frequency. There was a greater risk of the occurrence of SCA in individuals with the variant genotypes of the T6235C and A4889G polymorphisms, of the *CYP1A1* gene, associated with high consumption of meat. The frequency of the NAT1*10 haplotype was greater in patients than in controls, with increased risk of occurrence of SCA these individuals. Increased risk of occurrence of the disease was also observed in individuals with NAT1*10 haplotype of the gene *NAT1* and excessive consumption of meat and little vegetables and fruits. The results of the study suggest that the pathway inherited from the metabolism of carcinogens, *CYP1A1* and *NAT1*, associated with the pattern of diet influences the risk of occurrence of SCA in our country.

INTRODUÇÃO

1. Considerações gerais

Acredita-se que o câncer humano ocorra devido a anormalidades que conferem a algumas células vantagens, que são transmitidas às células filhas dando origem a um clone celular que escapa aos controles de crescimento e diferenciação (NAMBA et al., 1990). Embora cerca de 350 bilhões de células se dividam no organismo adulto normal todos os dias, o aparecimento de um tumor é relativamente raro, devido aos mecanismos fisiológicos de reparo do ácido desoxirribonucléico dos núcleos celulares (WARD, 1997).

O câncer é a segunda causa de morte nos Estados Unidos, sendo superado apenas pelas doenças cardiovasculares (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2005). Estima-se que em 2007 o câncer colorretal (CC) tenha sido a terceira maior causa de óbito atribuída a neoplasia, tanto em homens como em mulheres, após os cânceres de pulmão, próstata e mama. A incidência estimada da doença, para o ano de 2007, foi de aproximadamente 148.000 novos casos no país (PICKLE et al., 2007).

O câncer figura como a terceira principal causa de morte no Brasil, sendo superado apenas pelas doenças cardiovasculares e causas externas, como os acidentes de trânsito e aquelas atribuídas à violência urbana. O CC foi estimado como o quarto tipo de câncer mais incidente no país no ano de 2006, contabilizando cerca de 25.000 novos casos. A taxa de mortalidade por CC aumentou significativamente nos últimos anos. Foram registrados 2,44 óbitos por 100.000 homens no ano de 1979 e 4,32 óbitos por 100.000 homens no ano de 2000. Esse registro foi de 2,80 óbitos por 100.000 mulheres no ano de 1979 e de 4,75 óbitos por 100.000 mulheres no ano de 2000 (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2003).

Na cidade de Campinas, no período de 1991 a 1995, a taxa de mortalidade por CC foi de 18,7 óbitos por 100.000 homens e 16,7 óbitos por 100.000 mulheres (PARKIN et al., 2002). Já para a macroregião de Campinas, a incidência estimada da doença para o ano de 2006 foi de 1464 casos, com acometimento de 726 homens e 738 mulheres (IBGE, 2005).

Nos últimos anos a incidência de CC parece constante em áreas de alto risco representadas pelos países desenvolvidos e parece aumentar em áreas antes consideradas de baixo risco, ou seja, nos países em desenvolvimento. Supõe-se que isso se deva ao envelhecimento das populações, à adoção de estilos de vida sedentários e à aceitação de dietas pouco saudáveis, como aquelas ricas em gordura animal e pobres em frutas, verduras e fibras. Assim, cerca de 500.000 óbitos por ano são atribuídos à doença em todo o mundo, representando um problema de saúde pública importante (ROSSI et al., 2004).

2. Aspectos clínicos

Os sintomas relativos ao CC são extremamente variáveis, em decorrência de formas diferentes de crescimento e localização dos tumores. Os principais sintomas são o sangramento retal, a alteração do hábito intestinal e a dor abdominal (WAYER, 1980; ROSSI et al., 2004) (Figura 1).

A doença ocorre, em 90% dos casos, em indivíduos com idade maior ou igual a 50 anos (PETERS et al., 1989; SCHOTTENFELD, 1995). Além disso, o risco para o desenvolvimento do CC aumenta bruscamente a partir dos 50 anos, duplicando a cada década e atingindo o seu máximo entre 75 e 80 anos (WINAWER et al., 1985).

Os cânceres de cólon e de reto predominam discretamente em indivíduos do sexo masculino em relação aos do sexo feminino, com relações de 1,4:1,0 e de 1,7:1,0 respectivamente (SEER, 2000).

O principal sistema de estadiamento do tumor utilizado para a determinação do prognóstico e da terapêutica adequada a ser administrada a cada paciente é o TNM (FIELDING, 1995; GREENE et al., 2002).

O sistema TNM considera a extensão do acometimento do tumor na parede do cólon ou reto e em tecidos e órgãos adjacentes (T), a identificação da presença ou ausência de metástases para linfonodos (N) e a identificação da presença ou ausência de metástases em órgãos distantes (M). Cinco grupos de pacientes podem ser identificados por este sistema (estágios 0, I, II, III e IV) (FIELDING,

1995; GREENE et al., 2002), sendo que as maiores probabilidades de sobrevivência são observadas naqueles com os estágios 0 e I e a menor probabilidade de sobrevivência naqueles com o estágio IV da doença (FIELDING, 1995).

A despeito dos avanços terapêuticos, apenas cerca de 50% dos pacientes com CC sobrevive por um período de cinco anos (BEGG, 1995; COHEN, 1995; HERRERO-JIMENEZ et al., 2000; JEMAL et al., 2007).

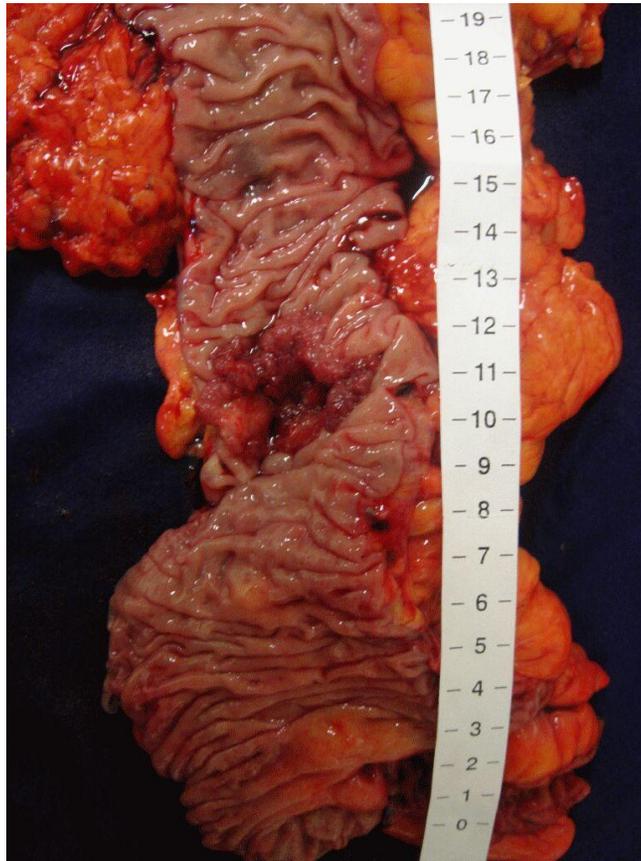


Figura 1: Tumor colorretal ulcerado em cólon sigmóide de paciente do Serviço de Coloproctologia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

3. Aspectos ambientais

O desenvolvimento do CC é resultado de uma complexa interação de variáveis, incluindo elementos externos, como a exposição a agentes ambientais e dietéticos, e fatores internos, de natureza somática ou hereditária (PINHO & ROSSI, 1999; ROSSI et al., 2004).

Alguns fatores ambientais parecem agir como carcinógenos diretamente ou aumentar as freqüências de mutações somáticas, predispondo ou determinando o aparecimento da neoplasia (HARDEN, 1995; SCHOTTENFELD, 1995).

Existe uma associação óbvia entre o padrão da dieta e o CC, ainda que não tenha sido identificado um carcinógeno específico que justifique completamente esta relação (SHIKE, 1995). Dietas ricas em carne vermelha e gordura saturada e carentes em frutas, vegetais e grãos, que contêm fibras insolúveis, ácido fólico, micronutrientes anti-oxidantes e cálcio, estão, em geral, associadas ao aumento do risco de ocorrência da doença (WILLETT et al., 1990; HILL, 1995; SCHOTTENFELD, 1995; LE MARCHAND et al., 2002; TIEMERSMA et al., 2002; SATIA-ABOUTA et al., 2004; ENGLISH et al., 2004; SANZ et al., 2004; TURNER et al., 2004).

As fibras podem funcionar como constituintes anticarcinogênicos por meio de vários mecanismos. Um deles é o aumento do volume das fezes, que estimula o peristaltismo e diminui o tempo de exposição do epitélio colorretal a carcinógenos intraluminais; outro seria pela estabilização dos níveis séricos de insulina que retardam a absorção do amido, cuja fermentação aumenta a produção de ácidos graxos de cadeia curta, os quais têm ação anticarcinogênica (HAWK et al., 2002; MC CULLOUGH et al., 2003; ROSSI et al., 2004).

Por outro lado, o folato é importante na síntese, reparo e metilação do ácido desoxirribonucléico (DNA). A deficiência de folato pode causar a troca de incorporação de uracil por timidina durante a síntese do DNA, o que pode levar ao aumento das mutações espontâneas; aumento da sensibilidade a agentes causadores de danos ao DNA e freqüência aumentada das aberrações cromossômicas e de erros de replicação do DNA. Também, anormalidades na

metilação de DNA podem determinar a ação de oncogenes ou inibir genes supressores de tumor (GIOVANNUCCI, 2002; ROSSI et al., 2004).

É possível que os alguns alimentos constituam uma fonte de substratos que possam ser metabolizados, por bactérias do cólon, a substâncias carcinogênicas ou mutagênicas (HILL, 1995), ou ainda, que possam ser ativados, por enzimas presentes na mucosa cólica, a substâncias carcinogênicas ou mutagênicas (DE WAZIERS et al., 1991). Dentre estes substratos estão as aminas aromáticas (AA), incluindo as arilaminas e as aminas heterocíclicas, produzidas pela exposição de carnes a temperaturas de pirólise durante o cozimento, e os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), contidos nos óleos vegetais (GERHARDSSON, 1991; BELL et al., 1995; SMITH et al., 1995; SACHSE et al., 2002).

Outro importante responsável pela exposição ambiental aos HAP e às AA é o cigarro (ALEXANDROV et al., 1996; COTTON, 2000; SACHSE et al., 2002), que parece estar associado ao aumento do risco do CC após um período de indução relativamente longo (KNEKT et al., 1998) ou de número considerável de cigarros consumidos por dia (SLATTERY et al., 1998).

AA e HAP podem causar danos ao DNA de células do cólon humano (ALEXANDROV et al., 1996) e, desta forma, determinar o CC.

Também importante, mas ainda de forma não muito bem elucidada, é a ação do álcool na carcinogênese. O etanol, ou um metabólito deste, o acetaldeído, pode induzir a hipometilação do DNA, uma das primeiras etapas na carcinogênese do CC, através do efeito anti-folato (HILLMAN et al., 1982). Além disso, o acetaldeído metabolizado pelas bactérias da flora intestinal pode aumentar o risco de CC por causar deficiência de folato (HOMANN et al., 2000; MIZOUE et al., 2006).

4. Aspectos genéticos

O CC pode ser determinado por fatores genéticos (CUNHA, 1980; HARNDEN, 1995; SHIKE, 1995; KINZLER & VOGELSTEIN, 1996; HOULSTON & TOMLINSON, 2001; FERREIRA & ROCHA, 2004; ROSSI et al., 2004).

Anormalidades em oncogenes ou genes supressores tumorais (FEARON et al., 1987; FINLEY et al., 1989; VOGELSTEIN et al., 1989; MELHAM et al., 1992; SIDRANSKY et al., 1992; GUILLEM et al., 1995), a instabilidade de microsátélites (IONOV et al., 1993; GUILLEM et al., 1995) e a desregulação de sinais das vias de transdução (GUILLEM et al., 1995) parecem estar definitivamente associadas à doença.

Embora a maioria dos casos de CC seja esporádico, é de muito conhecido que indivíduos de determinadas famílias apresentam risco aumentado da doença (HOULSTON & PETO, 1996). De fato, mutações de alta penetrância, particularmente as mutações nos genes *APC*, *MLH1* e *MSH2*, foram descritas em pacientes com CC familiar (BURT et al., 1990; BURT & GRODEN, 1993; PELTOMAK et al., 1993; BURT, 1995; PINHO & ROSSI, 1999; HOULSTON & TOMLINSON, 2001; ROSSI et al., 2004). Entretanto, polimorfismos de baixa penetrância em genes relacionados com o metabolismo de carcinógenos no epitélio do cólon, como o *CYP1A1* e o *NAT1*, parecem alterar o risco para a doença em ambos os cânceres, esporádico e familiar (HOULSTON & TOMLINSON, 2001; LANDI et al., 2005; RESZKA et al., 2006).

4.1. Gene *CYP1A1*

O gene *CYP1A1* está localizado no braço longo do cromossomo 15, na região 15q22. Codifica a produção da mono-oxigenase do citocromo P450 (P450A1), responsável pela ativação de AA e HAP de alimentos e tabaco (SMITH et al., 1995; KAWAJIRII et al., 1999; HOULSTON & TOMLINSON, 2001; AGUNDEZ, 2004). Os metabólitos ativados, por sua vez, podem causar mutações ou lesões no DNA de células variadas, incluindo as do cólon (SMITH et al., 1995).

O gene *CYP1A1* é polimórfico em humanos (SMITH et al., 1995; GARTE, 1998; HOULSTON & TOMLINSON, 2001). O polimorfismo T6325C do gene *CYP1A1* resulta da substituição da base nitrogenada timina por citosina em região não codificadora do gene. O genótipo variante em homozigose e heterozigose, pode ser identificado com freqüências que variam de 11% a 40% em diferentes

populações étnicas (SIVARAMAN et al., 1994; GARTE, 1998). Ele está associado com o aumento da expressão do gene em resposta à exposição aos HAP (KAWAJIRI et al., 1990). Outro polimorfismo do gene *CYP1A1*, o A4889G, é caracterizado pela substituição da base nitrogenada adenina por uma guanina na posição 4889 do éxon 7 do gene, com consequente substituição do aminoácido isoleucina por uma valina no resíduo 462 da proteína produzida. Esta modificação única de aminoácido determina a produção de uma enzima com atividade sete vezes maior do que a original (HAYASHI et al., 1994). Assim, hipoteticamente indivíduos com os genótipos variantes dos polimorfismos deste gene parecem mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças relacionadas à exposição a AA e HAP.

Os resultados de estudos epidemiológicos prévios indicaram a associação do polimorfismos T6325C (SIVARAMAN et al., 1994; LITTLE et al., 2006) e A4889G (KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; LITTLE et al., 2006; YEH et al., 2007) do gene *CYP1A1* ao aumento do risco do CC, mas não houve associação significativa do polimorfismo T6325C (ISHIBE et al., 2000; BUTLER., 2001; YEZ & PARRY 2002; FAN et al., 2006; BETHEKE et al., 2007) e do polimorfismo A4889G (SIVARAMAN et al., 1994; ISHIBE et al., 2000; BUTLER et al., 2001; SLATTERY et al., 2004; BETHEKE et al., 2007) com a doença em outros estudos.

4.2. Gene *NAT1*

O gene *NAT1* está localizado no braço curto do cromossomo 8, na região 8p22. Codifica a produção de uma enzima que determina a acetilação de AA do tabaco e de alguns alimentos com a produção de íons eletrofílicos capazes de induzir mutações pontuais no DNA de células variadas, incluindo as do cólon (BELL et al., 1995; SMITH et al., 1995; HOULSTON & TOMLINSON, 2001).

O gene *NAT1* é polimórfico em humanos (GARTE, 1998; HIRNOVEN, 1999; HOULSTON & TOMLINSON, 2001). Haplótipos distintos do gene determinam a produção de enzimas com atividades variadas na acetilação das AA (SMITH et al., 1995).

O haplótipo NAT1*4 do gene é considerado a forma selvagem, uma vez que é o mais comum, e codifica uma enzima com capacidade padrão de acetilação, sendo, por isso, denominado acetilador lento. Já o haplótipo NAT1*3 difere estruturalmente da forma selvagem pois apresenta a substituição da base nitrogenada citosina por adenina na posição 1095 (C1095A) da cadeia do DNA. Esta alteração, entretanto, não altera a função da proteína, tendo o fenótipo equivalente ao do selvagem. Por outro lado, a forma variante NAT1*10 é caracterizada por duas trocas de bases nitrogenadas, a C1095A, onde a citosina é substituída pela adenina na posição 1095 da cadeia de DNA e a T1088A, onde a timina é substituída pela adenina na posição 1088 da cadeia de DNA. Esta última transverso confere a este haplótipo a alteração no sinal de poliadenilação do DNA, resultando assim, na codificação de uma enzima com maior capacidade de acetilação de AA, sendo, dessa forma, considerado o acetilador rápido (CHEN et al., 1998; HENGSTLER, 1998; de LEÓN et al., 2000; LANDI et al., 2005) (Figura 2).

As frequências dos diferentes haplótipos são variáveis em indivíduos das diversas populações étnicas. Nos EUA a frequência da forma selvagem em homozigose teve variou de 44% a 62% para os indivíduos de origem caucasiana e foi de 24% para negróides. Já para indivíduos da população australiana essa frequência foi de 92% e da população japonesa de 38%. Por outro lado, o alelo NAT1*10 foi identificado em 30% a 40% dos indivíduos de origem caucasiana (BELL et al., 1995; Brockton et al., 2000).

Hipoteticamente, indivíduos com o haplótipo NAT1*10 parecem mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças relacionadas à exposição a AA e HAP.

O haplótipo NAT1*10 do gene foi associado ao aumento do risco do CC por Bell et al. (1995), Chen et al. (1998), Zhang et al. (2002), Stefano et al. (2005) e Lilla et al. (2006), mas nenhuma associação significativa entre ele e a ocorrência da doença foi observada em outros estudos (KATOH et al., 2000; BUTLER et al., 2001; TIEMERSMA et al., 2002; Zhang et al., 2002; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; MAHID et al., 2007 BUTLER et al., 2008).

Chen et al. (2005), em metanálise de 42 estudos realizados no período de 1990 a 2001, não encontraram relação dos haplótipos NAT1*3, NAT1*4 e NAT1*10, do gene *NAT1*, e dos polimorfismos T6235C e A4889G, do gene *CYP1A1*, com o risco de CC. Entretanto, foram incluídos nesta análise apenas indivíduos de países do hemisfério norte.

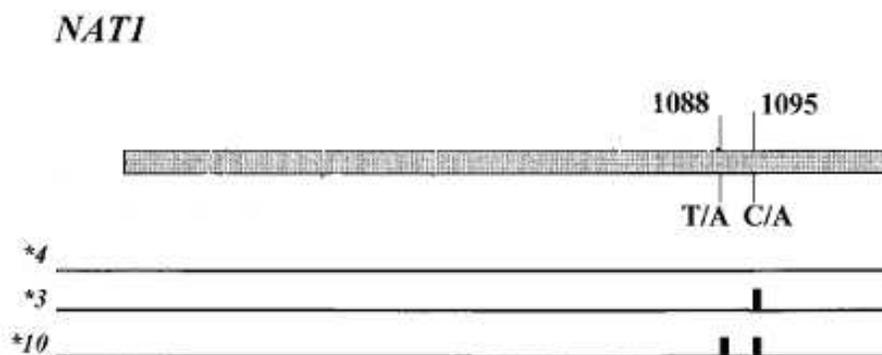


Figura 2: Variações estruturais dos haplótipos NAT1*3, NAT1*4 e NAT1*10 do gene *NAT1*. O haplótipo selvagem NAT1*4. O haplótipo NAT1*3 é caracterizado pela substituição da base nitrogenada citosina por uma adenina na posição 1095, através de uma transversão (C1095A). A associação desta substituição com a troca de uma timina por uma adenina na posição 1088 (T1088A), caracteriza o haplótipo NAT1*10. Esta transversão confere a este haplótipo a alteração no sinal de poliadenilação do DNA, resultando assim, na codificação de uma enzima com maior capacidade de acetilação de aminas aromáticas

É importante ressaltar que a origem étnica da população brasileira é altamente heterogênea, composta por indígenas e imigrantes da Europa, África e Ásia (ALVES-SILVA et al., 2000; CARVALHO-SILVA et al., 2001), e que os estudos sobre a influência dos polimorfismos dos genes *CYP1A1* e *NAT1* foram realizados predominantemente em populações caucasóides e asiáticas.

Também é importante comentar que as neoplasias constituem a segunda causa de óbito na região sudeste do país (DUNCAN et al., 1992) e que dietas pobres em fibras foram descritas em indivíduos desta região (GAMBARDELLA, 1999).

Frente ao exposto, nos pareceu interessante a avaliação da influência dos polimorfismos do gene *CYP1A1* e dos haplótipos do gene *NAT1* no risco de ocorrência do adenocarcinoma colorretal esporádico (ACE) em uma população mista, com alta incidência de neoplasias e com a possível ingestão de dieta carente em fibras.

OBJETIVOS

- Determinar as freqüências de ocorrência dos genótipos dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles;
- Determinar as freqüências de ocorrência dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes e controles;
- Verificar se os polimorfismos gênicos e haplótipos influenciam o risco de ocorrência do ACE;
- Verificar se os polimorfismos gênicos estão associados aos aspectos clínicos dos pacientes (idade, sexo, raça, hábito de fumar, padrão dietético e etilismo, e anátomo-patológicos e biológicos (localização, tipo histológico, grau de diferenciação e estágio TNM) do tumor.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. Avaliação clínica

Foram avaliados pacientes com ACE atendidos, por ocasião do diagnóstico ou durante o seguimento clínico, no período de 02/09/03 a 27/02/07, nos ambulatórios de Coloproctologia do Departamento de Cirurgia e nos ambulatórios de Oncologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Foram excluídos da casuística os pacientes que apresentaram polipose familiar, síndrome de Lynch, doenças inflamatórias intestinais, antecedente familiar de CC e aqueles que não aceitaram participar do estudo proposto.

Foi também estudado um grupo controle, constituído por doadores de sangue atendidos no Hemocentro da UNICAMP, com idade entre 50 e 60 anos, que não referiram perda de peso, sintomas gastro-intestinais ou antecedente familiar de CC, e que não apresentaram doenças consideradas pré-neoplásicas, como a polipose familiar, a síndrome de Lynch e as doenças inflamatórias intestinais. Os doadores foram pareados por raça com os pacientes do estudo.

O tamanho amostral do estudo, 250 pacientes e 250 controles, foi estabelecido de acordo com critérios descritos por Beigelman (1994), tendo como base as frequências dos diferentes genótipos em indivíduos saudáveis de outras populações.

Os dados relativos à identificação, à idade, ao sexo, à raça, ao tabagismo, ao etilismo e ao padrão da dieta dos pacientes foram obtidos por meio de questionário específico (Anexo 1), aplicados pelo pesquisador responsável pelo estudo. Já os exames laboratoriais necessários ao diagnóstico, à localização, à determinação do tipo histológico, do grau de diferenciação e do estágio do tumor, foram obtidos dos prontuários de cada paciente.

Foram considerados tabagistas os pacientes que mantiveram o hábito de fumar até o momento do diagnóstico do ACE. Foram considerados não tabagistas aqueles que nunca fumaram e ex-tabagistas aqueles que mantiveram o hábito de fumar até, no máximo, cinco anos antes do diagnóstico do ACE, de acordo com o proposto por FREEDMAN et al. (1996).

Foram considerados não etilistas aqueles que nunca beberam ou que beberam sistematicamente, mas não mais que 80g de álcool absoluto por semana (5 drinques/semana). Foram considerados etilistas aqueles que beberam sistematicamente mais que 80g de álcool absoluto por semana e ex-etilistas aqueles que apresentaram período de abstinência alcoólica maior que seis meses, segundo os critérios estabelecidos pelo ICEPA – Inventário de Expectativas e Crenças Pessoais Acerca do Álcool (GOUVEIA et al., 1996).

O padrão dietético foi avaliado em pacientes, por meio da aplicação de um recordatório de frequência alimentar (SALVO & GIMENO, 2002), considerando particularmente os alimentos considerados predisponentes e protetores no desenvolvimento do ACE (WILLET, 1990; SCHOTTENFELD, 1995). A quantidade ingerida de cada alimento foi avaliada pelo consumo de porções mensais, sendo que a quantidade de cada porção foi a descrita no Manual de Contagem de Carboidratos de Gouveia e Bruno (2001). A classificação dos pacientes como pertencentes a grupos com ingestão preconizada, maior que a preconizada ou menor que a preconizada de carnes, frutas, cereais integrais, verduras e leguminosas foi baseada nos critérios da pirâmide alimentar brasileira do Ministério da Saúde e Agricultura (1997) (Figura 3), com correções para número de porções ao mês.

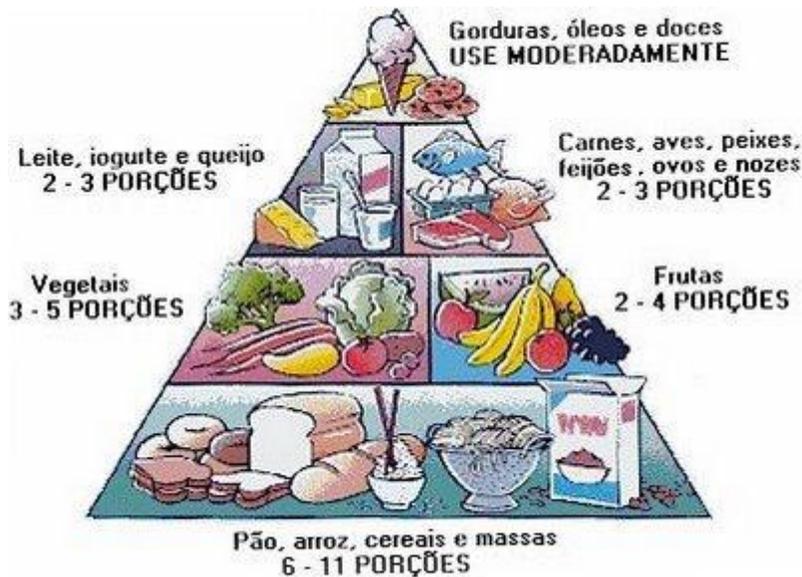


Figura 3: Representação esquemática do número de porções diárias dos diferentes grupos de alimentos preconizados para a população brasileira (pirâmide alimentar brasileira)

2. Avaliação do tumor

Foi considerada a localização do tumor descrita no exame anátomo-patológico da peça cirúrgica. Foram considerados como proximais os tumores localizados em cólons ascendente, transverso ou descendente, e como distais os localizados em cólon sigmóide ou reto. O diagnóstico do ACE foi realizado em cortes histológicos de fragmentos do tumor incluídos em parafina e corados por hematoxilina e eosina e a classificação do grau de diferenciação do mesmo foi realizada de acordo com os critérios propostos por Broders (1925).

O estágio do tumor foi identificado com base nos achados intra-operatórios, nos resultados obtidos do exame histológico da peça cirúrgica, da ultra-sonografia e tomografia computadorizada do abdome e pelve e da radiografia de tórax de acordo com o proposto por Greene (2002) para o sistema TNM (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer colorretal

Categorias	Descrições
Categoria T Tumor	
Tx	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor se estende até a submucosa
T2	Tumor se estende até a muscular própria
T3	Tumor ultrapassa a muscular própria até a subserosa ou tecidos pericólicos não peritoniais ou perirretais
T4	Tumor se estende diretamente até outros órgãos ou tecidos, ou perfura o peritônio visceral
Categoria N Linfonodos regionais	
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Nenhuma metástase em linfonodos regionais
N1	Metástase em 1 a 3 linfonodos pericólicos ou perirretais
N2	Metástase em 4 ou mais linfonodos pericólicos ou perirretais
N3	Metástase em qualquer linfonodo ao longo do curso de um tronco vascular principal
Categoria M Metástases à distância	
MX	Metástase à distância não pode ser avaliada
M0	Nenhuma metástase à distância foi identificada
M1	Metástase à distância presente

Tabela 2: Grupos de estágios e características TNM do câncer colorretal

Estágio	Classificação TNM		
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
II	T3	N0	M0
	T4	N0	M0
III	qualquer T	N1	M0
	qualquer T	N2	M0
	qualquer T	N3	M0
IV	qualquer T	qualquer N	M1

Os dados clínicos de todos os controles foram obtidos por meio de questionários específicos aplicados pelo pesquisador responsável pelo estudo. Os dados relativos ao hábito de fumar, à ingestão de bebida alcoólica e ao padrão da dieta foram obtidos, retrospectivamente, por meio de um questionário específico (Anexo 1), aplicado a controles que puderam ser localizados, pelo pesquisador responsável pelo estudo.

Os pacientes foram distribuídos de acordo com a idade, o sexo, a raça, o tabagismo, o etilismo, o padrão dietético, a localização, o grau de diferenciação e o estágio TNM do tumor.

Os indivíduos controle foram distribuídos de acordo com a idade, o sexo, a raça, o tabagismo, o etilismo e o padrão dietético.

3. Análise molecular dos genes *CYP1A1* e *NAT1*

3.1. Extração do DNA a partir dos leucócitos

O DNA genômico foi obtido de amostras de sangue periférico dos pacientes com ACE e dos indivíduos controle. O método utilizado foi o descrito por Woodhead et al. (1986), com modificações. Foram colhidos 4 ml de sangue periférico de cada paciente ou controle, em frasco estéril contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). A amostra foi centrifugada a 1.300 rpm por 11 minutos. Após o descarte do plasma, os eritrócitos contidos em 500 µl da solução remanescente foram lisados em um tubo cônico de 1,5 ml com uma mistura de sacarose 320 mM, Tris HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 5 mM e Triton X-100 1%. Em seguida, o botão de leucócitos obtido foi diluído em uma mistura de Tris HCl pH 7,5; EDTA 10 mM, NaCl 10 mM e sódio dodecil sulfato (SDS) 20%, compondo um tampão de digestão de proteínas juntamente com a proteinase K (20 mg/ml). A suspensão permaneceu em banho-maria a 55°C por duas horas. A seguir, foram adicionados 200 µl de cloreto de lítio à suspensão e esta foi levada ao freezer a -20°C durante 15 minutos. Após isso, a solução foi centrifugada por 10 minutos a 13.000 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro tubo cônico

de 1,5 ml. A seguir, o DNA obtido dos leucócitos foi precipitado em etanol absoluto, reidratado em álcool 70% e diluído em água estéril a 37°C.

3.2. Identificação dos genótipos dos polimorfismos do gene *CYP1A1*

A amplificação da região do gene *CYP1A1* onde está localizado o polimorfismo T6325C foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Os procedimentos técnicos estão descritos abaixo.

Em um tubo cônico de 1,5 ml foram adicionados 2,0 µl do DNA a ser estudado, 5 µl de tampão da enzima, 2,5 µl de cloreto de magnésio, 0,5 µl de iniciadores descritos por Cascorbi et al. (1996), direto (5'-GCTGAGCAA TCTGACCCTA-3') e reverso (5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'), 1 µl da mistura desoxirribonucléica – dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 0,5 µl de *Taq* DNA polimerase e 43 µl de água estéril, para um volume final de 55 µl.

A reação foi conduzida inicialmente, por um ciclo a 94°C durante 5 minutos, para inativação da atividade de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática, e, posteriormente, por 35 ciclos de amplificação em termociclador (MJ Research, Inc, Watertown, MA, EUA). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 94°C durante 30 segundos (para desnaturação do DNA), 63°C durante 1 minuto (para ocorrer a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante 1 minuto (para a síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 35 ciclos, o produto de amplificação foi mantido a 72°C durante 5 minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo. A seguir, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 4°C.

Posteriormente, 5 µl do produto da PCR foram submetidos a corrida eletroforética em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Foram utilizadas como controles positivo e negativo, amostra de DNA obtida de sangue periférico de um indivíduo com o genótipo selvagem e água, respectivamente. Um fragmento de DNA com 899 pares de bases (pb) foi observado em amostras com integridade do DNA. Foram consideradas amostras

com DNA degradado ou obtidas em escassas quantidades, aquelas nas quais não foi observado o fragmento de 899 pb. Os genótipos distintos do polimorfismo T6235C foram avaliados por meio da digestão enzimática dos fragmentos amplificados, com a utilização de 10 µl do produto da PCR, 3,25 µl de água estéril, 1,5 µl de tampão e 0,25 µl da enzima *Msp* I. A mistura foi colocada em banho-maria, a 37°C, por 1 hora. A presença do polimorfismo foi analisada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Os fragmentos com 899 pb foram obtidos dos alelos selvagens (T) do gene *CYP1A1*. Os alelos variantes (C) foram caracterizados por fragmentos de 693 e 206 pb.

Já a região com o polimorfismo A4889G foi amplificada por PCR, com a utilização dos iniciadores direto 5'-CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC-3' e reverso 5'-TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC-3', ambos na quantidade de 5 µl, juntamente com 42 µl de água estéril, 5 µl de tampão da enzima, 2,5 µl de cloreto de magnésio, 3 µl do DNA a ser estudado, 1 µl da mistura desoxirribonucléica – dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) e 0,5 µl de *Taq* DNA polimerase, para um volume final de 55 µl.

A reação foi conduzida inicialmente por um ciclo a 94°C durante 5 minutos, para inativação da atividade de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática, e posteriormente por 35 ciclos de amplificação em termociclador (MJ Research, Inc, Watertown, MA, EUA). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 94°C durante 30 segundos (para desnaturação do DNA), 63°C durante 30 segundos (para ocorrer a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante 30 segundos (para a síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 35 ciclos, o produto de amplificação foi mantido a 72°C durante 5 minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo, e resfriado a 4°C, temperatura na qual foi mantido até o próximo passo.

A seguir, 5 µl do produto da PCR foram submetidos a corrida eletroforética em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Foram

utilizadas como controles positivo e negativo, amostra de DNA obtida de sangue periférico de um indivíduo com o genótipo selvagem e água, respectivamente. Um fragmento de DNA com 204 pb foi observado em amostras com integridade do DNA. Foram consideradas, amostras com DNA degradado ou obtidas em escassas quantidades, aquelas nas quais não foi observado o fragmento de 204 pb. Os genótipos distintos do polimorfismo A4889G foram avaliados por meio da digestão enzimática dos fragmentos amplificados, com a utilização de 10 µl do produto da PCR, 3,25 µl de água estéril, 1,5 µl de tampão e 0,25 µl da enzima *BseM* I. A seguir, a mistura foi colocada em banho-maria, a 37°C, por 1 hora. Os genótipos foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 3% corado com brometo de etídeo, para visualização dos fragmentos amplificados sob luz ultravioleta. Fragmentos com 149 e 55 pb foram obtidos dos alelos selvagens. Os alelos variantes foram representados por fragmentos de 204 pb.

3.3. Identificação dos haplótipos do gene *NAT1*

O polimorfismo *NAT1**10 foi avaliado de acordo com os métodos descritos por Bell et al. (1995).

A região do gene *NAT1* onde estão localizados os haplótipos *NAT1**4, *NAT1**3 e *NAT1**10 foi amplificada por PCR com a utilização dos iniciadores direto (5'-TAAAACAATCTTGTCTATTTG-3') e reverso (5'-ACAGGCCATCTTTAGAA-3'), ambos na quantidade de 1 µl (solução 1:10), juntamente com 33 µl de água estéril, 5 µl de tampão da enzima, 2,5 µl de cloreto de magnésio, 3 µl do DNA a ser estudado, 1 µl da mistura desoxirribonucléica – dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 0,5 µl de *Taq* DNA polimerase e 3 µl de DMSO, para um volume final de 50 µl.

A reação foi conduzida inicialmente, por um ciclo a 94°C durante 4 minutos, para inativação da atividade de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática, e posteriormente por 35 ciclos de amplificação em termociclador (MJ Research, Watertown, Inc, MA, EUA). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 94°C durante 30 segundos (para desnaturação do DNA),

42°C durante 30 segundos (para ocorrer a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante 45 segundos (para a síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 35 ciclos, o produto de amplificação foi mantido a 72°C durante 5 minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo. A seguir, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 4°C.

Após as reações de amplificação, 5 µl do produto da PCR foram submetidos a corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Foram utilizadas como controle positivo e negativo, amostra de DNA obtida de sangue periférico de um indivíduo com o genótipo selvagem e água, respectivamente. Um fragmento de DNA com 247 pb foi observado em amostras com integridade do DNA. Foram consideradas, amostras com DNA degradado ou obtidas em escassas quantidades, aquelas nas quais não foi observado o fragmento de 247 pb.

A presença dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 foi avaliada por meio da digestão enzimática dos fragmentos amplificados, com a utilização de 10 µl do produto da PCR, 3 µl de água estéril, 1,5 µl de tampão e 0,5 µl da enzima *Mbo* II. A seguir, a mistura foi colocada em banho-maria a 37°C por 2 horas. A presença dos polimorfismos foi analisada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Fragmentos com 105, 71, 45 e 26 pb identificaram o polimorfismo NAT1*4, enquanto que fragmentos com 131, 71 e 45 pb representaram os polimorfismos NAT1*3 ou NAT1*10.

A distinção entre os polimorfismos NAT1*3 e NAT1*10 foi feita através do método de PCR alelo-específico. Os iniciadores direto (5'-TAAAACAATCTTG TCTATTTG-3') e reverso (5'-GCCATCTTTAAAATACATTTT-3') foram usados para identificar o haplótipo NAT1*10 ambos na quantidade de 0,5 µl (solução 1:5). Foram também utilizados na mesma reação os iniciadores direto (5'-ATACAATGTATCATGCCTCTTTGCACC-3') e reverso (5'-GTATTTTCCCAA GGTGGAACTAGCTC-3') para amplificação da parte do gene da globina beta,

usada como controle da reação, na quantidade de 0,5 µl cada (solução 1:10), 36,5 µl de água estéril, 5 µl de tampão da enzima, 2,5 µl de cloreto de magnésio, 2 µl do DNA a ser estudado, 1 µl da mistura desoxirribonucléica – dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 0,5 µl de *Taq* DNA polimerase e 0,5 µl de DMSO, para um volume final de 50 µl.

A reação foi conduzida inicialmente, por um ciclo a 94°C durante 4 minutos, para inativação da atividade de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática, e posteriormente por 30 ciclos de amplificação em termociclador (MJ Research, Watertown, Inc, MA, EUA). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 94°C durante 30 segundos (para desnaturação do DNA), 52°C durante 30 segundos (para ocorrer a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante 45 segundos (para a síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 30 ciclos, o produto de amplificação foi mantido a 72°C durante 5 minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo. A seguir, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 4°C.

Após as reações de amplificação, 5 µl do produto da PCR foram submetidos a corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta.

Os fragmentos correspondentes à globina beta apresentaram 690 pb. Já o haplótipo NAT1*10 foi identificado por fragmentos de 223 pb.

Para a identificação do haplótipo NAT1*3, foram utilizados os iniciadores: direto (5'-TAAAACAATCTTGTCTATTTG-3') e reverso (5'-GCCATCTTTAAAATA CATTTA-3') ambos na quantidade de 0,5 µl (solução 1:5), juntamente com os iniciadores para a amplificação de parte do gene da globina beta na quantidade de 0,5 µl cada (solução 1:10), 35,5 µl de água estéril, 5 µl de tampão da enzima, 2,5 µl de cloreto de magnésio, 3,0 µl do DNA a ser estudado, 1 µl da mistura desoxirribonucléica – dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 0,5 µl de *Taq* DNA polimerase e 0,5 µl de DMSO, para um volume final de 50 µl.

A reação foi conduzida inicialmente, por um ciclo a 94°C durante 4 minutos, para inativação da atividade de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática, e posteriormente por 30 ciclos de amplificação em termociclador (MJ Research, Watertown, Inc, MA, EUA). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 94°C durante 30 segundos (para desnaturação do DNA); 52°C durante 30 segundos (para ocorrer a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante 45 segundos (para a síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 30 ciclos, o produto de amplificação foi mantido a 72°C durante 5 minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo. A seguir, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 4°C.

Após as reações de amplificação, 5 µl do produto da PCR foram submetidos a corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta.

O controle interno, representado pela globina beta, produziu uma banda de 690 pb e o haplótipo NAT1*3 correspondeu a fragmentos de 223 pb.

4. 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. O exame radiográfico de tórax, a ultra-sonografia e a tomografia computadorizada do abdome e pelve foram exames realizados de rotina para o estadiamento da doença e para as determinações do prognóstico e da terapêutica a ser administrada. Nenhum material adicional foi coletado dos pacientes ou controles.

Os procedimentos foram realizados após a obtenção do termo de consentimento, livre e esclarecido pós-informação, assinado por pacientes (Anexo 2) e por controles (Anexo 3) que aceitaram participar do estudo, e após a

aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (227/2003) (Anexo 4) e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP (1544/2003) (Anexo 5).

5. Análise estatística

O teste de verificação do Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizado com o intuito de verificar se ocorreu distribuição preferencial de algum dos genótipos avaliados no grupo de pacientes e controles utilizados no estudo (BEIGUELMAN, 1995).

O significado estatístico das diferenças entre grupos foi calculado por meio dos testes da probabilidade exata de Fisher ou do qui-quadrado (análise univariada).

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

Os valores das ORs foram corrigidos por meio de modelos de regressão logística múltipla, tendo como variável dependente o grupo (pacientes e controles) e como variáveis independentes a idade, a raça e o sexo. A regressão logística foi também utilizada para verificar a interação entre variáveis clínicas e anátomo-patológicas e biológicas do tumor em pacientes.

As análises foram realizadas com a utilização do pacote estatístico *SPSS for Windows, version 8.0.0* (SPSS Incorporation, USA).

RESULTADOS

1. Avaliação clínica

As distribuições individualizadas dos 254 pacientes, de acordo com a idade, o sexo, a raça, o tabagismo, o etilismo e o padrão dietético estão apresentadas nos Anexos 6 e 7.

As distribuições dos 254 pacientes com ACE incluídos no estudo, de acordo com características clínicas e hábitos, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuições dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com a idade, o sexo, a raça e o hábito do tabagismo e do etilismo

Variáveis	Número de pacientes (%)
Idade (anos)	
< 60	135 (53,1)
≥ 60	119 (46,9)
Sexo	
Masculino	143 (56,3)
Feminino	111 (43,7)
Raça	
Caucasóide	217 (85,4)
Negróide	33 (13,0)
Asiático	04 (1,6)
Tabagismo	
Não tabagista	122 (48,0)
Ex-tabagista	56 (22,0)
Tabagista	71 (28,0)
Não obtido	05 (2,0)
Etilismo	
Não etilista	131 (51,6)
Ex-etilista	23 (9,1)
Etilista	20 (7,9)
Não obtido	80 (31,5)

A idade média \pm DP dos pacientes inseridos no estudo foi de $59,0 \pm 13,0$ anos, com mediana de 59,0 anos (variação: 24-87). Houve um discreto predomínio de pacientes com idade menor que 60 anos.

A distribuição dos pacientes por sexo mostrou um discreto predomínio da doença em pacientes do sexo masculino em relação aos do feminino, guardando uma relação entre si de 1,3:1,0.

A distribuição dos pacientes por raça mostrou que a doença ocorreu predominantemente em caucasóides.

Já a distribuição dos pacientes quanto ao hábito de fumar, mostrou que a doença ocorreu de forma semelhante em indivíduos não tabagistas, ex-tabagistas ou tabagistas.

Quando foi considerada a distribuição dos pacientes, em relação ao etilismo, observamos que a doença ocorreu predominantemente em não-etilistas.

Tabela 4: Distribuições dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico em relação ao padrão dietético, de acordo com os valores de referência da pirâmide alimentar brasileira

Variáveis de consumo	Número de pacientes (%)
Carne	
Menor ou igual ao preconizado	54 (21,2)
Maior que o preconizado	115 (45,3)
Não obtida	85 (33,5)
Verduras e leguminosas	
Menor que o preconizado	149 (58,7)
Maior ou igual ao preconizado	20 (7,8)
Não obtida	85 (33,5)
Frutas	
Menor que o preconizado	138 (54,3)
Maior ou igual ao preconizado	31 (12,2)
Não obtida	85 (33,5)
Cereais e fibras	
Menor que o preconizado	168 (66,5)
Maior ou igual ao preconizado	0 (0,0)
Não obtida	85 (33,5)

A mediana do número de porções de carnes consumidas por pacientes ao mês, foi de 66 (variação 12-180). As medianas de números de porções de verduras e leguminosas foi de 70 (variação 0-240), de frutas foi de 56 (variação 0-224) e de cereais e fibras foi de 12 (variação 2-32). Consumo de carnes maior que o preconizado, caracterizou cerca de metade dos pacientes da nossa amostra. Já o consumo menor que o preconizado de verduras e

leguminosas, frutas e cereais caracterizam cerca de 60% dos pacientes inseridos no estudo.

As distribuições individualizadas dos 257 controles, de acordo com a idade, o sexo, a raça, o hábito do tabagismo, o etilismo e o padrão dietético estão apresentadas nos Anexos 8 e 9.

A idade média \pm DP dos controles inseridos no estudo foi de $61,0 \pm 3,0$ anos, com mediana de 60,0 anos (variação: 54-67).

Dos 257 controles, 195 indivíduos foram do sexo masculino e 62 do sexo feminino, 217 caucasóides, 33 negróides e 02 asiáticos.

As distribuições comparativas dos 254 pacientes com ACE e dos 257 controles incluídos no estudo, de acordo com o padrão dietético e o consumo dos diferentes tipos de carnes, estão apresentadas nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: Distribuições dos 169 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e dos 101 jucontroles de acordo com o padrão dietético estabelecido com bases nas referências da pirâmide alimentar brasileira

Variáveis de Consumo	Pacientes n(%)	Controles n(%)	OR (IC95%)	P valor
Carnes Totais				
Menor ou igual preconizado	54 (31,9)	66 (65,3)	1,00 (referência)	< 0,0001
Maior que preconizado	115 (68,1)	35 (34,7)	24,3 (17,3-31,3)	
Verduras e leguminosas				
Menor que preconizado	149 (88,1)	83 (82,2)	4,7 (5,4-14,9)	0,93
Maior ou igual preconizado	20 (11,9)	18 (17,8)	1,00 (referência)	
Frutas				
Menor que preconizado	138 (81,5)	82 (81,2)	8,1 (3,2-19,3)	0,82
Maior ou igual preconizado	31 (18,4)	19 (18,8)	1,00 (referência)	
Cereais Integrais				
Menor que preconizado	169(100,0)	101 (100,0)	3,0 (1,2-4,93)	< 0,0001
Maior ou igual preconizado	0 (0,0)	0 (0,0)	1,00 (referência)	

* O número de pacientes e controles avaliados por consumo dos diversos grupos de alimentos (169 e 101) diferem do total incluído no estudo (254 e 255) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis em vários indivíduos

Observamos que cerca de 70% dos pacientes com ACE referiram ingestão de carnes maior do que a preconizada, enquanto que cerca de 70% dos controles referiram ingestão de carnes menor ou igual à preconizada.

Indivíduos com alto consumo de carnes estiveram sob risco 24 vezes maior de ACE do que os demais. Não foram observadas diferenças significativas no padrão de ingestão de verduras, leguminosas e frutas entre pacientes e controles.

Ainda, todos os pacientes e controles avaliados referiram ingestão insuficiente de cereais integrais.

Tabela 6: Distribuições dos 169 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e 101 controles de acordo com o consumo médio dos diferentes tipos de carnes

Tipo de Carne	Pacientes (número médio porções ao mês)	Controles (número médio porções ao mês)	P Valor
Bovina	143,8	121,0	0,02
Frango	148,8	112,5	<0,0001
Suína	153,8	103,9	<0,0001
Embutidos	144,9	119,2	0,01
Frios	138,9	129,7	0,32
Peixe	128,4	147,8	0,04

O número de pacientes e controles avaliados por consumo dos diversos grupos de alimentos (169 e 101) diferem do total incluído no estudo (254 e 255) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis em vários indivíduos

O consumo médio de carne bovina, carne de frango, carne suína e embutidos foi maior em pacientes do que em controles. Pacientes e controles ingeriram frios de forma semelhante. Ainda, o consumo médio de peixes em controles foi maior do que em pacientes.

2. Avaliação do tumor

As distribuições individualizadas dos 254 pacientes de acordo com a localização, o grau de diferenciação e o estágio do tumor estão apresentadas no Anexo 6.

As distribuições dos 254 pacientes de acordo com as características do tumor, estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7: Distribuição dos 254 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com a localização, o grau de diferenciação e o estágio TNM do tumor

Variáveis do tumor	Número de pacientes (%)
Localização	
Proximal	64 (25,2)
Distal	179 (70,5)
Proximal + distal	04 (1,6)
Não obtido	07 (2,8)
Grau de diferenciação	
Bem diferenciado	50 (19,7)
Moderadamente diferenciado	178 (70,1)
Pouco diferenciado	14 (5,5)
Não obtido	12 (4,7)
Estágio TNM	
I	39 (15,4)
II	70 (27,6)
III	81 (31,9)
IV	32 (12,6)
Não obtido	21 (8,3)

As distribuições dos pacientes por localização e grau de diferenciação mostraram que cerca de 70% deles apresentou tumor distal e moderadamente diferenciado.

Já a distribuição por estágios do sistema TNM mostrou que cerca de 40% dos pacientes apresentaram tumor de estágio avançado (estágios III + IV). O estadiamento do tumor não pôde ser realizado em 21 pacientes com tumor retal, que foram submetidos a tratamento neoadjuvante, após o qual não foi identificada lesão residual na peça cirúrgica.

3. Análise molecular do gene *CYP1A1*

3.1. Polimorfismo T6235C em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos pacientes com ACE e controles, de acordo com os genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, estão apresentadas nos Anexos 9 e 10, respectivamente.

Os resultados obtidos em indivíduos inseridos no estudo, após a amplificação da região de interesse do gene *CYP1A1* e após a digestão enzimática dos fragmentos amplificados, estão apresentados nas Figuras 4 e 5, respectivamente.

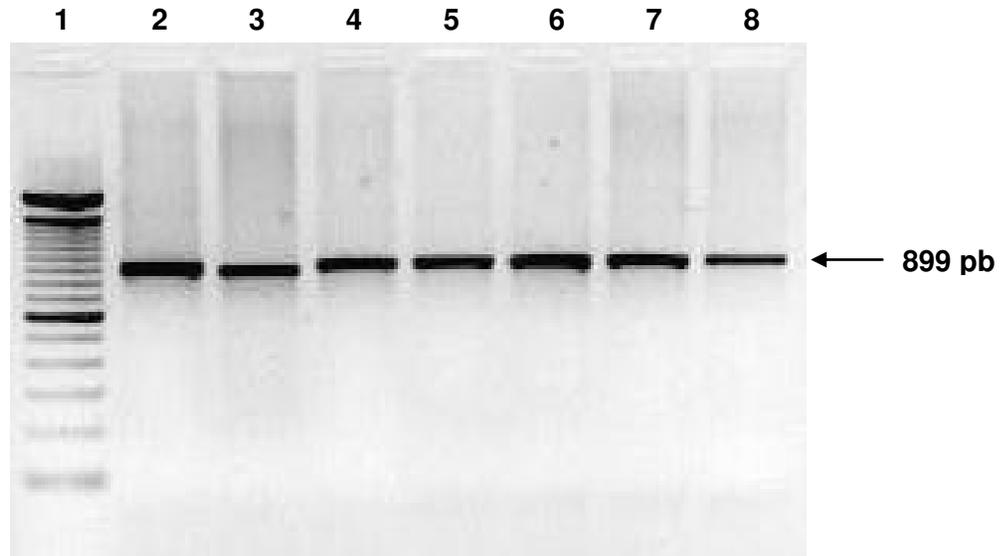


Figura 4: Eletroforese em gel de agarose 2% com fragmentos de 899 pb obtidos após a amplificação de fragmento do gene *CYP1A1*, que contém o polimorfismo T6235C, por meio da reação em cadeia da polimerase de indivíduos inseridos no estudo. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1

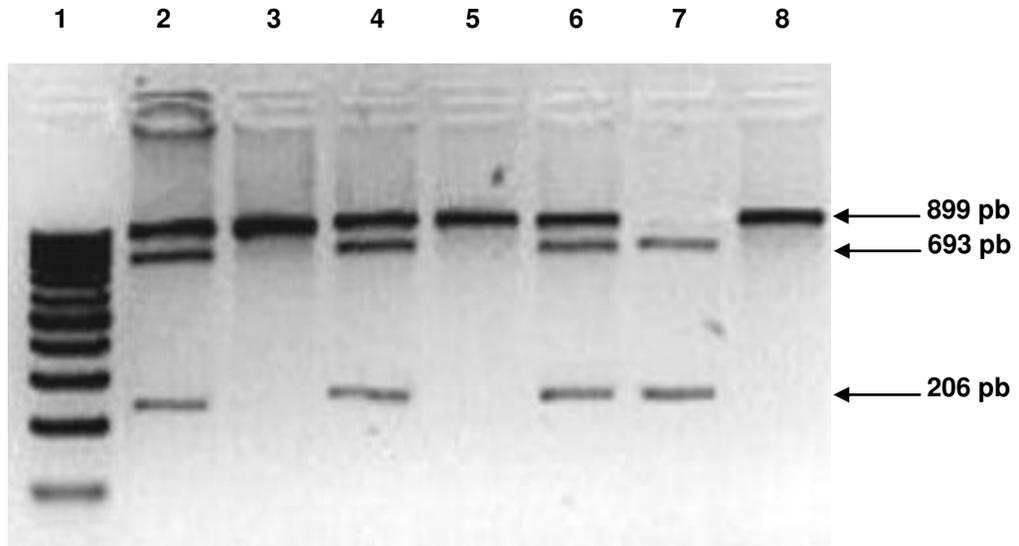


Figura 5: Produtos da digestão enzimática com a enzima *Msp* I para a identificação dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, em gel de agarose 2%. Os fragmentos de 899 pb correspondem ao alelo selvagem (T) e os fragmentos de 693 pb e 206 pb correspondem ao alelo variante (C). O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com o genótipo selvagem estão apresentados nas colunas 3, 5 e 8. Os resultados obtidos em indivíduos com o genótipo variante em heterozigose estão apresentados nas colunas 2, 4 e 6 e com o genótipo variante em homozigose na coluna 7

As amostras dos controles ($X^2 = 0,054$; $P = 0,81$) assim como as amostras dos pacientes ($X^2 = 1,04$; $P = 0,30$) estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg no locus do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*.

As freqüências dos genótipos distintos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8: Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles

Polimorfismo T6235C	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	Valor de P
TT	175 (70,6)	163 (63,9)	1,00 (referência)	
TC	64 (25,8)	81 (31,8)	0,73 (0,49-1,10)	0,13
CC	9 (3,6)	11 (4,3)	0,76 (0,30-1,96)	0,56
TT	175 (70,6)	163 (63,9)	1,00 (referência)	
TC + CC	73 (29,4)	92 (36,1)	0,74 (0,50-1,08)	0,12
TT + TC	239 (96,4)	244(95,7)	1,00 (referência)	
CC	9 (3,6)	11(4,3)	0,83 (0,32-2,09)	0,68

n, número de casos; número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; TT, indivíduos com o genótipo selvagem em homozigose; TC, indivíduos heterozigotos; CC, indivíduos com o genótipo variante em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Não foram observadas diferenças significativas entre as freqüências dos genótipos TT, TC, e CC, quando avaliadas isoladamente ou combinadas, em pacientes e controles.

Riscos similares de ocorrência da doença foram observados em indivíduos com os distintos genótipos.

As frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados pelos consumos variados de carnes, verduras e frutas estão apresentados nas tabelas 9, 10 e 11 respectivamente.

Tabela 9: Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de carnes

<i>CYP1A1</i> T6235C / Consumo de carnes	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
TT / maior preconizado	74 (29,4)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0,10
TC + CC / maior preconizado	39 (15,5)	13 (5,1)	1,80 (0,90-3,63)	
TT + TC / maior preconizado	108 (42,8)	34 (13,3)	1,00 (referência)	0,33
CC / maior preconizado	05 (2,0)	01 (0,4)	3,01 (0,3-27,3)	
TT / menor ou igual preconizado	39 (15,5)	47 (18,4)	1,00 (referência)	0,0007
TC + CC / maior preconizado	39 (15,5)	13 (5,1)	3,85 (1,77-8,4)	
TT + TC / menor ou igual preconizado	50 (19,8)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,14
CC / maior preconizado	05 (2,0)	01 (0,4)	5,30 (0,58-48,3)	
TT / menor ou igual preconizado	39 (15,5)	47 (18,4)	1,00 (referência)	0,63
TC + CC / menor ou igual preconizado	11 (4,4)	17 (6,7)	0,80 (0,33-1,96)	
TT + TC / menor ou igual preconizado	50 (19,8)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,71
CC / menor ou igual preconizado	00 (0,0)	02 (0,8)	0,003 (0,00-7,91)	

TT, indivíduos com o genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

A frequência combinada dos genótipos variantes,TC+CC, foi maior em pacientes com alta ingestão de carne do que em controles. Indivíduos com os genótipos variantes e com alto consumo de carnes estiveram sob risco 3,85 vezes maior de manifestar o ACE do que os demais.

Tabela 10: Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de verduras e leguminosas

<i>CYP1A1</i> T6235C / Consumo de verduras e leguminosas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
TT / menor preconizado	91 (36,1)	52 (20,4)	1,00 (referência)	0.85
TC + CC / menor preconizado	47 (18,6)	25 (9,8)	1,06 (0,58-1,95)	
TT + TC / menor preconizado	134 (53,2)	74 (29,0)	1,00 (referência)	0.84
CC / menor preconizado	04 (1,6)	03 (1,2)	0,86 (0,1-4,1)	
TT / maior ou igual preconizado	22 (8,7)	17 (6,7)	1,00 (referência)	0.37
TC + CC / maior ou igual preconizado	47 (18,6)	25 (9,8)	1,44 (0,64-3,26)	
TT + TC / maior ou igual preconizado	24 (9,5)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0.94
CC / maior ou igual preconizado	04 (1,6)	03 (1,2)	1,06 (0,19-5,69)	
TT / maior ou igual preconizado	22 (8,7)	17 (6,7)	1,00 (referência)	0.35
TC + CC / maior ou igual preconizado	03 (1,2)	05 (2,0)	0,47 (0,94-2,33)	
TT + TC / maior ou igual preconizado	24 (9,5)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0.86
CC / maior ou igual preconizado	01 (0,4)	00 (0,0)	761,5 (0,00-1,24)	

TT, indivíduos com o genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Não observamos diferenças significativas entre os genótipos distintos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* e os diferentes padrões de consumo de verduras e leguminosas em pacientes e controles.

Tabela 11: Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por diferentes consumos de frutas

<i>CYP1A1</i> T6235C / Consumo de frutas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
TT / menor preconizado	79 (31,3)	39 (15,3)	1,00 (referência)	0.47
TC + CC / menor preconizado	33 (13,1)	21 (8,2)	0,78 (0,39-1,54)	
TT + TC / menor preconizado	109 (43,2)	57 (22,3)	1,00 (referência)	0.55
CC / menor preconizado	03 (1,2)	03 (1,2)	0,60 (0,1-3,1)	
TT / maior ou igual preconizado	34 (13,7)	00 (0,0)	1,00 (referência)	0.40
TC + CC / maior ou igual preconizado	33 (13,1)	21 (8,2)	1,38 (0,64-2,30)	
TT + TC / maior ou igual preconizado	49 (19,4)	00 (0,0)	1,00 (referência)	0.90
CC / maior ou igual preconizado	03 (1,2)	03 (1,2)	1,11 (0,20-6,25)	
TT / maior ou igual preconizado	34 (13,7)	00 (0,0)	1,00 (referência)	0.37
TC + CC / maior ou igual preconizado	17 (6,7)	00 (0,0)	1,56 (0,58-4,18)	
TT + TC / maior ou igual preconizado	49 (19,4)	00 (0,0)	1,00 (referência)	0.79
CC / maior ou igual preconizado	02 (0,8)	00 (0,0)	834,3 (0,00-4,74)	

TT, indivíduos com o genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Frequências similares dos genótipos foram observadas em pacientes e controles com os diferentes consumos de frutas.

3.2. Polimorfismo T6235C e aspectos clínicos de pacientes

As freqüências do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos estão apresentadas na Tabela 12. Já as freqüências estratificadas por padrão dietético estão na tabela 13.

Tabela 12: Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em adenocarcinoma colorretal esporádico estratificados por aspectos clínicos

Variável	n	Genótipos Isolados			Genótipos Combinados	
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Idade	247 *					
< 60	141	100 (70,9)	36 (25,5)	05 (3,6)	136 (96,4)	41 (29,1)
≥ 60	106	75 (70,7)	27 (25,5)	04 (3,8)	102 (96,2)	31 (29,3)
<i>P</i> valor			0,99		0,59	0,54
Raça	248 *					
Caucasóide	211	152 (72,0)	51 (24,2)	08 (3,8)	203 (96,2)	59 (28,0)
Negróide	32	21 (65,6)	11 (34,4)	00 (0,0)	32 (100,0)	11 (34,4)
Asiático	05	02 (40,0)	02 (40,0)	01 (20,0)	04 (80,0)	03 (60,0)
<i>P</i> valor			0,10		0,08	0,49
Sexo	247 *					
Masculino	141	104 (73,7)	32 (22,7)	05 (3,6)	136 (96,4)	37 (26,3)
Feminino	106	71 (66,9)	31 (29,3)	04 (3,8)	102 (96,2)	35 (33,1)
<i>P</i> valor			0,49		1,0	0,26
Tabagismo	243 *					
Tabagista	70	51 (72,9)	15 (21,4)	04 (5,7)	66 (94,3)	19 (27,1)
Ex-Tabagista	54	36 (66,7)	17 (31,5)	01 (1,8)	53 (98,2)	18 (33,3)
Não Tabagista	119	85 (71,4)	31 (26,1)	03 (2,5)	116 (97,5)	34 (28,6)
<i>P</i> valor			0,53		0,39	0,73
Etilismo	168 *					
Etilista	19	11 (57,9)	07 (36,8)	01 (5,3)	18 (94,7)	08 (42,1)
Ex-etilista	22	18 (81,8)	04 (18,2)	00 (0,0)	22 (100,0)	04 (18,2)
Não etilista	127	88 (69,3)	35 (27,6)	4 (3,1)	123 (96,9)	39 (30,7)
<i>P</i> valor			0,53		0,59	0,24

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; TT, indivíduos com o genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes com ACE, em relação à idade, à raça, ao sexo e quanto aos hábitos do tabagismo e do etilismo.

Tabela 13: Freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por padrão dietético

Variável	n	Genótipos Isolados			Genótipos Combinados	
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Consumo Carnes	164 *					
Menor ou igual preconizado	43	32 (74,4)	11 (25,6)	00 (0,0)	43 (26,4)	11 (6,7)
Maior preconizado	121	81 (66,9)	34 (28,1)	05 (4,1)	115 (95,0)	39 (32,2)
Valor de <i>P</i>			0,35		0,32	0,44
Consumo Verduras	163 *					
Maior ou igual preconizado	18	16 (88,9)	01 (5,6)	01 (5,6)	17 (94,4)	02 (11,2)
Menor preconizado	145	97 (66,9)	44 (30,3)	04 (2,8)	141 (97,2)	48 (33,1)
Valor de <i>P</i>			0,07		0,44	0,02
Consumo Frutas	163 *					
Maior ou igual preconizado	30	22 (73,4)	07 (23,3)	01 (3,3)	29 (96,7)	08 (26,6)
Menor preconizado	133	91 (68,4)	38 (28,6)	04 (3,0)	129 (97,0)	42 (31,6)
Valor de <i>P</i>			0,84		1,0	0,66

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; TT, indivíduos com o genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose

Freqüências similares dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* foram observadas em pacientes com os diversos consumos de carnes e frutas. Entretanto, a freqüência dos genótipos variantes, TC+CC, foi maior em pacientes com consumo insuficiente de verduras do que naqueles com consumo ideal.

3.3. Polimorfismo T6235C e aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

As freqüências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14: Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

Variável	n	Genótipos Isolados			Genótipos Combinados	
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Localização Tumor	241 *					
Distal	174	120 (68,9)	49 (28,2)	05 (2,9)	169 (97,1)	54 (31,1)
Proximal/ Proximal e Distal	67	52 (77,6)	12 (17,9)	03 (4,5)	64 (95,5)	15 (22,4)
<i>P</i> valor			0,23		0,68	0,20
Grau Diferenciação	237 *					
Pouco	14	10 (71,4)	04 (28,6)	00 (0,0)	14 (100,0)	04 (28,6)
Moderado	173	121 (69,9)	46 (26,6)	06 (3,5)	167 (96,5)	52 (30,1)
Bem	50	38 (76,0)	10 (20,0)	02 (4,0)	48 (96,0)	12 (24,0)
<i>P</i> valor			0,83		0,75	0,70
Estágio TNM	218 *					
I-II	108	82 (75,9)	24 (22,3)	02 (1,8)	106 (98,2)	26 (24,1)
III-IV	110	72 (65,4)	32 (29,1)	06 (5,5)	104 (94,5)	38 (34,6)
<i>P</i> valor			0,15		0,28	0,10

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; TT, indivíduos com genótipo selvagem; TC, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; CC, indivíduos com o polimorfismo em homozigose

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes com ACE, em relação à localização, ao grau de diferenciação e ao estágio TNM do tumor.

3.4. Polimorfismo A4889G em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos pacientes com ACE e controles, de acordo com os genótipos do gene *CYP1A1*, para o polimorfismo A4889G, estão apresentadas nos Anexos 10 e 11, respectivamente.

Os resultados obtidos em indivíduos inseridos no estudo após a amplificação da região de interesse do gene *CYP1A1* e após a digestão enzimática dos fragmentos amplificados estão apresentados nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

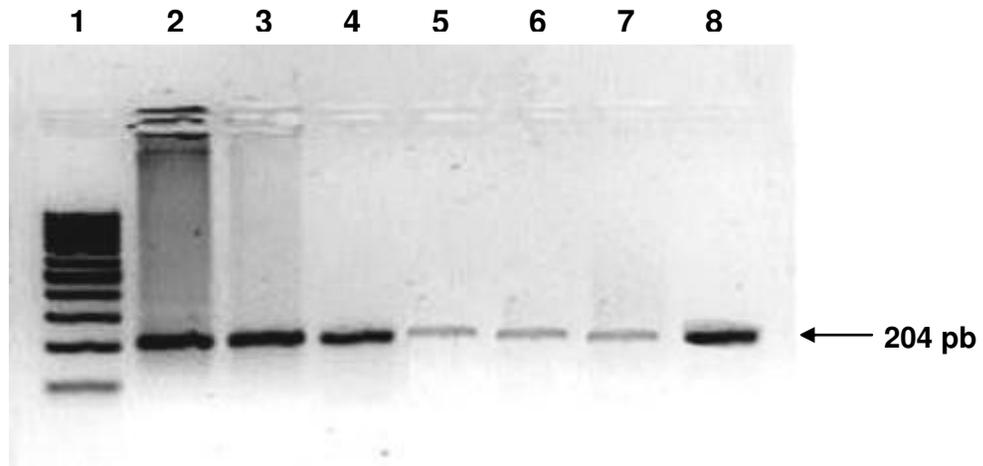


Figura 6: Eletroforese em gel de agarose 2% com fragmentos de 204 pb obtidos após a amplificação de parte do éxon 7 do gene *CYP1A1*, que contém o polimorfismo A4889G, por meio da reação em cadeia da polimerase. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos inseridos no estudo estão apresentados nas colunas de 2 a 8

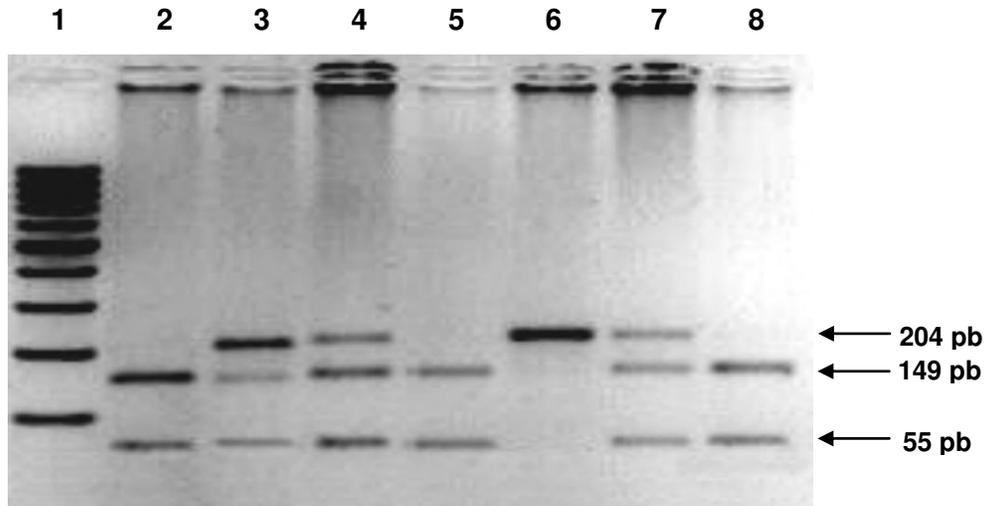


Figura 7: Produtos da digestão enzimática com a enzima *BsrD* I para a identificação dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, em gel de agarose 2%. Os fragmentos de 149 pb e 55 pb correspondem ao alelo selvagem. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com o genótipo selvagem estão apresentados nas colunas 2, 5 e 8. Os resultados obtidos em indivíduos com o genótipo variante em heterozigose estão apresentados nas colunas 3, 4 e 7 e com o genótipo variante em homozigose na coluna 6

As amostras dos controles avaliadas para o polimorfismo A4889G estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($X^2 = 1,11$; $P = 0,29$). Em contraste, as amostras dos pacientes não confirmaram a expectativa de Hardy-Weinberg ($X^2 = 28,14$; $P < 0,0001$) no locus do polimorfismo A4889G.

As freqüências do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estão apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15: Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles

Polimorfismo A4889G	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	Valor de P
GG	16 (6,6)	08 (3,0)	1,65 (0,67-4,08)	0,28
AG	39 (15,4)	61 (24,2)	0,64 (0,41-1,02)	0,06
AA	195 (78,0)	185 (72,8)	1,00 (referência)	
GG + AG	55 (22,0)	69 (27,2)	0,76 (0,50-1,15)	0,20
AA	195 (78,0)	185 (72,8)	1,00 (referência)	
GG	15 (6,0)	09 (3,5)	1,80 (0,73-4,43)	0,20
AG + AA	235 (94,0)	245 (96,5)	1,00 (referência)	

n, número de casos; GG, indivíduos com o genótipo variante em homozigose; AG, indivíduos em heterozigose; AA, indivíduos com o genótipo selvagem; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Não houve diferença significativa entre as frequências dos genótipos AA, AG e GG, isolados ou agrupados, em pacientes e controles.

Riscos similares de ocorrência da doença foram observados em indivíduos com os distintos genótipos.

As frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por consumos variados de carnes, verduras e leguminosas e frutas estão apresentadas nas tabelas 16, 17 e 18, respectivamente.

Tabela 16: Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene CYP1A1 em pacientes e controles estratificados por consumo de carnes

CYP1A1 A4889G / Consumo de carnes	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
AA / maior preconizado	84 (33,3)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0,24
AG + GG / maior preconizado	30 (12,0)	13 (5,1)	0,60 (0,25 – 1,40)	
AA + AG / maior preconizado	104 (41,3)	34 (13,3)	1,00 (referência)	0,22
GG / maior preconizado	10 (4,0)	01 (0,4)	3,83 (0,4 – 33,4)	
AA / menor ou igual preconizado	44 (17,4)	49 (19,4)	1,00 (referência)	0,007
AG + GG / maior preconizado	30 (12,0)	13 (5,1)	3,02 (1,35 – 6,7)	
AA + AG / menor ou igual preconizado	48 (19,0)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,018
GG / maior preconizado	10 (4,0)	01 (0,4)	12,8 (1,54 – 106,3)	
AA / menor ou igual preconizado	44 (17,4)	49 (19,4)	1,00 (referência)	0,32
AG + GG / menor ou igual preconizado	07 (2,8)	15 (6,0)	0,60 (0,21 – 1,66)	
AA + AG / menor ou igual preconizado	48 (19,0)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,47
GG / menor ou igual preconizado	03 (1,2)	02 (0,8)	2,06 (0,29 – 14,57)	

AA, indivíduos com o genótipo selvagem; AG, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; GG, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

A frequência isolada do genótipo variante GG e a frequência combinada dos genótipos variantes, AG+GG foram maiores em pacientes com alta ingestão de carne do que em controles. Indivíduos com os genótipos variantes e com alto consumo de carnes estiveram sob risco 3,02 vezes maior de manifestar o ACE do que os demais.

Tabela 17: Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por consumo de verduras e leguminosas

<i>CYP1A1</i> A4889G / Consumo de verduras e leguminosas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
AA / menor preconizado	107 (42,5)	52 (20,4)	1,00 (referência)	0,16
AG + GG / menor preconizado	32 (12,7)	25 (9,8)	0,63 (0,33-1,20)	
AA + AG / menor preconizado	128 (50,9)	74 (29,0)	1,00 (referência)	0,30
GG / menor preconizado	11 (4,4)	03 (1,2)	2,01 (0,53-7,65)	
AA / maior ou igual preconizado	21 (8,3)	19 (7,5)	1,00 (referência)	0,63
AG + GG / menor preconizado	32 (12,7)	25 (9,8)	1,23 (0,52-2,88)	
AA + AG / maior ou igual preconizado	24 (9,5)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0,10
GG / menor preconizado	11 (4,4)	03 (1,2)	3,32 (0,79-13,98)	
AA / maior ou igual preconizado	21 (8,3)	19 (7,5)	1,00 (referência)	0,55
AG + GG / maior ou igual preconizado	05 (2,0)	03 (1,2)	1,62 (0,33-7,98)	
AA + AG / maior ou igual preconizado	24 (9,5)	22 (8,6)	1,00 (referência)	0,78
GG / maior ou igual preconizado	02 (0,8)	00 (0,0)	113,8 (0,00-3,4)	

AA, indivíduos com o genótipo selvagem; AG, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; GG, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Não observamos diferenças significativas entre os genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* e os diferentes padrões de consumo de verduras e leguminosas em pacientes e controles.

Tabela 18: Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estratificados por consumo de frutas

<i>CYP1A1</i> A4889G / Consumo de frutas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
AA / menor preconizado	91 (36,1)	42 (16,5)	1,00 (referência)	0,16
AG + GG / menor preconizado	23 (9,1)	18 (7,1)	0,59 (0,28-1,23)	
AA + AG / menor preconizado	107 (42,5)	57 (22,3)	1,00 (referência)	0,71
GG / menor preconizado	07 (2,8)	03 (1,2)	1,30 (0,31-5,38)	
AA / maior ou igual preconizado	37 (14,7)	29 (11,4)	1,00 (referência)	0,95
AG + GG / maior ou igual preconizado	23 (9,1)	18 (7,1)	1,02 (0,45-2,28)	
AA + AG / maior ou igual preconizado	45 (17,8)	39 (15,3)	1,00 (referência)	0,26
GG / maior ou igual preconizado	07 (2,8)	03 (1,2)	2,32 (0,53-10,17)	
AA / maior ou igual preconizado	37 (14,7)	29 (11,4)	1,00 (referência)	0,68
AG + GG / maior ou igual preconizado	14 (5,5)	10 (3,9)	1,23 (0,45-3,34)	
AA + AG / maior ou igual preconizado	45 (17,8)	39 (15,3)	1,00 (referência)	0,73
GG / maior ou igual preconizado	06 (2,4)	00 (0,0)	296,8 (0,00-2,43)	

AA, indivíduos com o genótipo selvagem; AG, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; GG, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Freqüências similares dos genótipos avaliados foram observadas em pacientes e controles com distintos consumos de frutas.

3.5. Polimorfismo A4889G e aspectos clínicos de pacientes

As freqüências do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos e por padrão dietético estão apresentadas nas Tabelas 19 e 20, respectivamente.

Tabela 19: Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos

Variável	n	Genótipos Isolados			Genótipos Combinados	
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Idade	249 *					
< 60	142	101 (71,1)	29 (20,4)	12 (8,5)	130 (91,5)	41 (28,9)
≥ 60	107	80 (74,8)	19 (17,7)	08 (7,5)	99 (92,5)	27 (25,2)
<i>P</i> valor			0,81		0,48	0,56
Raça	249 *					
Caucasóide	212	149 (70,3)	44 (20,7)	19 (9,0)	193 (91,0)	63 (29,7)
Negróide	33	29 (87,9)	03 (9,1)	01 (3,0)	32 (97,0)	04 (12,1)
Asiático	04	03 (75,0)	01 (25,0)	00 (0,0)	04 (100,0)	01 (25,0)
<i>P</i> valor			0,30		0,42	0,10
Sexo	249 *					
Masculino	142	101 (71,1)	29 (20,4)	12 (8,5)	130 (91,5)	41 (28,9)
Feminino	107	80 (74,8)	19 (17,7)	08 (7,5)	99 (92,5)	27 (25,2)
<i>P</i> valor			0,81		0,81	0,56
Tabagismo	245 *					
Tabagista	71	55 (77,5)	11 (15,5)	05 (7,0)	66 (93,0)	16 (22,5)
Ex-Tabagista	54	39 (72,2)	12 (22,2)	03 (5,6)	51 (94,4)	15 (27,8)
Não Tabagista	120	98 (81,7)	15 (12,5)	07 (5,8)	113 (94,2)	22 (18,3)
<i>P</i> valor			0,58		0,92	0,36
Etilismo	170 *					
Etilista	20	13 (65,0)	05 (25,0)	02 (10,0)	18 (90,0)	7 (35,0)
Ex-etilista	22	19 (86,4)	03 (13,6)	00 (0,0)	22 (100,0)	3 (13,6)
Não etilista	128	100 (78,1)	17 (13,3)	11 (8,6)	117 (91,4)	28 (21,9)
<i>P</i> valor			0,37		0,34	0,24

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; AA, indivíduos com o genótipo selvagem; AG, indivíduos com a variação em heterozigose; GG, indivíduos com a variação em homozigose

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos polimorfismos A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes com ACE, em relação à idade, à raça, ao sexo e quanto aos hábitos do tabagismo e do etilismo.

Tabela 20: Freqüências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por padrão dietético

Variável	n	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Consumo Carnes	165 *					
Menor ou igual preconizado	44	39 (88,6)	03 (6,8)	02 (4,6)	42 (95,4)	05 (11,4)
Maior preconizado	121	89 (73,6)	21 (17,3)	11 (9,1)	110 (90,9)	32 (26,4)
<i>P</i> valor			0,12		0,51	0,06
Consumo Verduras	165 *					
Maior ou igual preconizado	18	15 (78,9)	03 (15,8)	01 (5,3)	18 (94,7)	04 (21,1)
Menor preconizado	145	113 (77,4)	21 (14,4)	12 (8,2)	134 (91,8)	33 (22,6)
<i>P</i> valor			0,89		1,00	1,00
Consumo Frutas	165 *					
Maior ou igual preconizado	30	22 (73,4)	04 (13,3)	04 (13,3)	26 (86,7)	08 (26,6)
Menor preconizado	135	106 (78,5)	20 (14,8)	09 (6,7)	126 (93,3)	29 (21,5)
<i>P</i> valor			0,47		0,25	0,62

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; AA, indivíduos com o genótipo selvagem; AG, indivíduos com o genótipo variante em heterozigose; GG, indivíduos com o genótipo variante em homozigose; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Observamos uma tendência de risco entre as freqüências do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, em pacientes com ACE, em relação ao consumo de carne quando considerados aqueles com consumo acima do preconizado ($P = 0,06$). Entretanto, quando comparadas as freqüências do grupo de pacientes com a combinação dos genótipos variantes, que tiveram um consumo maior do que o preconizado de carnes, com os controles não foi observada diferença. Freqüências similares dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* foram observadas em pacientes estratificados pelos diferentes consumos de verduras e frutas.

3.6. Polimorfismo A4889G aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

As frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor estão apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21: Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

Variável	n	Genótipos Isolados			Genótipos Combinados	
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Localização Tumor	243 *					
Distal	176	132 (75,0)	31 (17,6)	13 (7,4)	163 (92,6)	44 (25,0)
Proximal/ Proximal e Distal	67	46 (68,7)	16 (23,9)	05 (7,4)	62 (92,6)	21 (31,3)
<i>P</i> valor			0,53		1,0	0,33
Grau Diferenciação	239 *					
Pouco	14	12 (85,7)	02 (14,3)	00 (0,0)	14 (100,0)	02 (14,3)
Moderado	175	131 (74,8)	32 (18,3)	12 (6,9)	163 (93,1)	44 (25,2)
Bem	50	32 (64,0)	12 (24,0)	06 (12,0)	44 (88,0)	18 (36,0)
<i>P</i> valor			0,37		0,26	0,17
TNM	220 *					
I-II	109	85 (78,0)	18 (16,5)	06 (5,5)	103 (94,5)	24 (22,0)
III-IV	111	76 (68,5)	25 (22,5)	10 (9,0)	101 (91,0)	35 (31,5)
<i>P</i> valor			0,26		0,43	0,12

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; AA, indivíduos com genótipo selvagem; AG, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; GG, indivíduos com o polimorfismo em homozigose

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos polimorfismos A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes com ACE, em relação à localização, ao grau de diferenciação e ao estágio TNM do tumor.

4. Análise molecular do gene *NAT1*

4.1. Haplótipos *NAT1*4*, *NAT1*3* e *NAT1*10* em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos pacientes com ACE e controles, de acordo com os haplótipos do gene *NAT1* para os polimorfismos *NAT1*4*, *NAT1*3* e *NAT1*10*, estão apresentadas nos Anexos 10 e 11, respectivamente.

Os resultados obtidos em indivíduos inseridos no estudo após a amplificação da região de interesse do gene *NAT1* e após a digestão enzimática dos fragmentos amplificados estão apresentados nas Figuras 8, 9, 10 e 11, respectivamente.

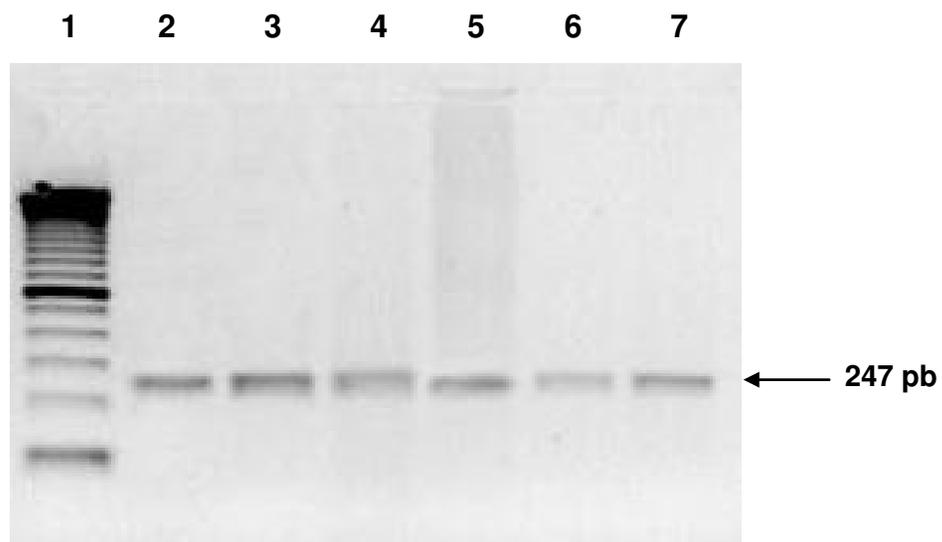


Figura 8: Eletroforese em gel de agarose 2% com fragmentos de 247 pb obtidos após a amplificação de fragmento do gene *NAT1* por meio da reação em cadeia da polimerase. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos inseridos no estudo estão apresentados nas colunas 2 a 7

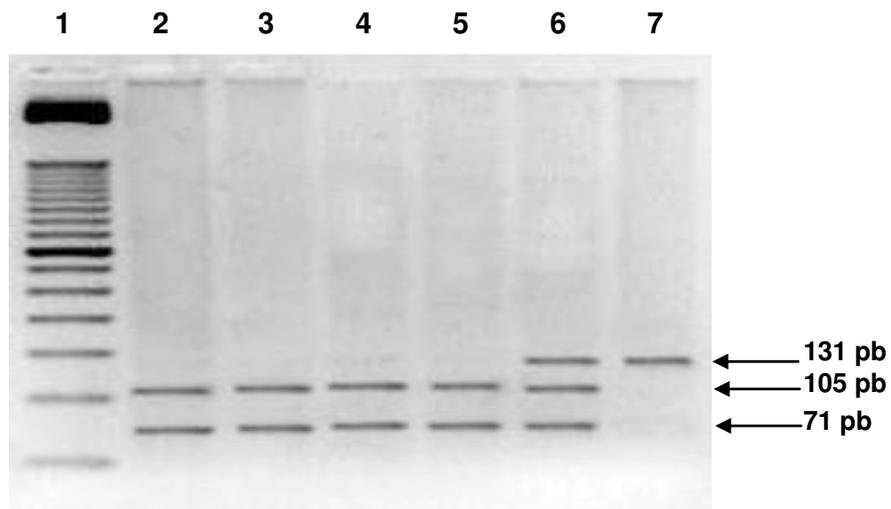


Figura 9: Produtos da digestão enzimática com a enzima *Mbo* I para a identificação dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1*, em gel de agarose 4%. Os fragmentos com bandas de 105 pb, 71 pb, 45 pb e 26 pb correspondem ao haplótipo selvagem (4/4). Os fragmentos de 45 pb e 26 pb não constam da figura. Os fragmentos de 131 pb, 71 pb e 45 pb correspondem aos haplótipos variantes (3/3, 3/10 ou 10/10). O fragmento de 45 pb não consta da figura. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com o haplótipo selvagem estão apresentados nas colunas 2, 3, 4 e 5. O haplótipo variante em heterozigose (4/3 ou 4/10) está apresentado na coluna 6 e o haplótipo variante em homozigose (3/3, 3/10 ou 10/10) na coluna 7

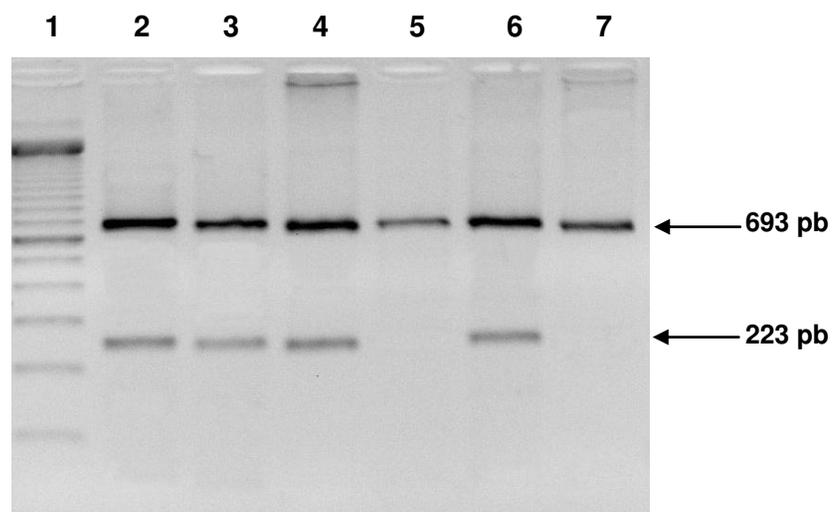


Figura 10: Eletroforese em gel de agarose 2% com produtos obtidos após a realização da reação em cadeia da polimeirase alelo-específica para identificação do polimorfismo NAT1*3. Os fragmentos com banda de 693 pb representam parte do gene da globina beta e os com 223 pb, o variante NAT1*3. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com presença do alelo NAT1*3 inseridos no estudo, estão apresentados nas colunas 2, 3, 4 e 6. Os resultados obtidos de indivíduos sem o polimorfismo NAT1*3 estão apresentados nas colunas 5 e 7

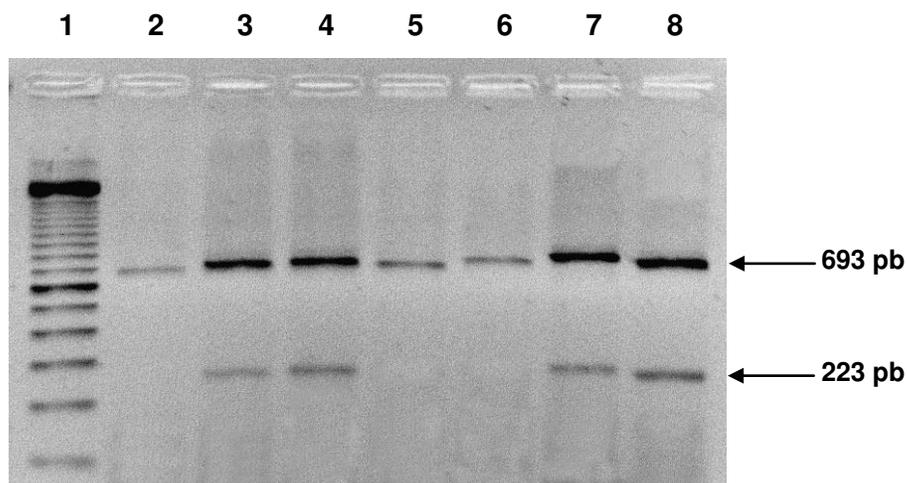


Figura 21: Eletroforese em gel de agarose 2% com produtos obtidos após a realização da reação em cadeia da polimerase alelo-específica para identificação do polimorfismo NAT1*10. Os fragmentos de 693 pb representam parte do gene da globina beta e os com 223 pb, o alelo variante NAT1*10. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com presença do alelo NAT1*10 inseridos no estudo estão apresentados nas colunas 3, 4, 7 e 8. Os resultados obtidos de indivíduos sem o polimorfismo NAT1*10 estão apresentados nas colunas 2, 5 e 6

As amostras dos controles avaliadas para os polimorfismos do gene *NAT1* estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($X^2 = 0,48$; $P = 0,49$) assim como as amostras dos pacientes ($X^2 = 1,06$; $P = 0,30$).

As frequências dos polimorfismos do gene *NAT1* em pacientes e controles estão apresentadas na Tabela 22.

Tabela 22: Freqüências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e controles

Polimorfismos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	Valor de <i>P</i>
10/10	17 (6,9)	18 (7,1)	1,20 (0,51-2,79)	0,67
4/10+3/10	108 (43,5)	91 (36,0)	1,81 (1,14-2,87)	0,01
4/4+3/3+4/3	123 (49,6)	144 (56,9)	1,00 (referência)	
10/10 + 4/10+3/10	125 (50,4)	109 (43,1)	1,67 (1,09-2,56)	0,02
4/4+3/3+4/3	123 (49,6)	144 (56,9)	1,00 (referência)	
10/10	17 (6,8)	18 (7,1)	1,07 (0,47-2,46)	0,86
4/10+3/10 + 4/4+3/3+4/3	231 (93,2)	235 (92,9)	1,00 (referência)	

n, número de casos; 10/10 e 3/3, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; 4/4, indivíduos com os alelos selvagens, OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça; os genótipos 10/10, 4/10 e 3/10 correspondem aos acetiladores rápidos; os genótipos 3/3, 4/3 e 4/4 correspondem aos acetiladores lentos

Não foram observadas diferenças significativas entre as freqüências dos genótipos 10/10, 4/10, 4/4, 4/3 e 3/10 quando avaliadas isoladamente. Porém houve diferença significativa quando comparadas as freqüências combinadas 10/10+4/10+3/10 (acetiladores rápidos) em relação as 4/4+3/3+4/3 (acetiladores lentos) ($P = 0,02$).

As frequências dos haplótipos NAT1*3, NAT1*4 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes e controles estratificados por consumos variados de carnes, verduras e leguminosas e frutas estão apresentadas nas tabelas 23, 24 e 25 respectivamente.

Tabela 23: Frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene NAT1 em pacientes e controles estratificados por consumo de carnes

NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 / Consumo de carnes	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e maior preconizado	107 (42,4)	34 (13,3)	1,00 (referência)	0,75
10/10 e maior preconizado	07 (2,8)	00 (0,0)	921,6 (0,00-2,04)	
4/4+4/3+3/3 e maior preconizado	80 (31,7)	31 (12,1)	1,00 (referência)	0,01
4/10+3/10 + 10/10 e maior preconizado	34 (13,5)	03 (1,2)	4,98 (1,35-18,28)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e menor ou igual preconizado	48 (19,0)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,70
10/10 e maior preconizado	07 (2,8)	00 (0,0)	5675,9 (0,00-8,7)	
4/4+4/3+3/3 e menor ou igual preconizado	39 (15,5)	49 (19,2)	1,00 (referência)	<0,0001
4/10+3/10 + 10/10 e maior preconizado	34 (13,5)	03 (1,2)	35,3 (7,12-175,5)	
4/4+4/3+3/3 e menor ou igual preconizado	33 (13,1)	49 (19,2)	1,00 (referência)	0,07
4/10+3/10 + 10/10 e menor ou igual preconizado	17 (6,7)	15 (5,8)	2,32 (0,92-5,87)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e menor ou igual preconizado	48 (19,0)	62 (24,3)	1,00 (referência)	0,71
10/10 e menor ou igual preconizado	02 (0,8)	02 (0,8)	1,47 (0,18-11,5)	

10/10 e 3/3, indivíduos com o haplótipo em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o haplótipo em heterozigose; 4/4 , indivíduos com haplótipo selvagem; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

A frequência combinada de haplótipos variantes NAT1*10, em homozigose e heterozigose, que caracterizam indivíduos acetiladores rápidos, foi maior em pacientes do que em controles com consumo excessivo de carnes.

Indivíduos com os haplótipos variantes e consumo excessivo de carnes estiveram sob risco de ACE 35,3 vezes maior que os demais.

Tabela 24: Frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3, NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes e controles estratificados por consumo de verduras e leguminosas

NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 / Consumo de verduras e leguminosas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e menor preconizado	131 (52,0)	75 (29,4)	1,00 (referência)	0,43
10/10 e menor preconizado	07 (2,8)	02 (0,8)	1,93 (0,37-9,96)	
4/4+4/3+3/3 e menor preconizado	96 (38,1)	64 (25,1)	1,00 (referência)	0,02
4/10+3/10 + 10/10 e menor preconizado	42 (16,7)	13 (5,1)	2,28 (1,09-4,75)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e maior ou igual preconizado	24 (9,5)	21 (8,2)	1,00 (referência)	0,17
10/10 e menor preconizado	07 (2,8)	02 (0,8)	3,34 (0,60-18,64)	
4/4+4/3+3/3 e maior ou igual preconizado	22 (8,7)	17 (6,7)	1,00 (referência)	0,02
4/10+3/10 + 10/10 e menor preconizado	42 (16,7)	13 (5,1)	3,29 (1,18-9,16)	
4/4+4/3+3/3 e maior ou igual preconizado	17 (6,7)	16 (6,2)	1,00 (referência)	0,17
4/10+3/10 + 10/10 e maior ou igual preconizado	09 (3,6)	05 (2,0)	3,00 (0,61-14,57)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e maior ou igual preconizado	24 (9,5)	21 (8,2)	1,00 (referência)	0,78
10/10 e maior ou igual preconizado	02 (0,8)	00 (0,0)	137,4 (0,00-1,60)	

10/10 e 3/3, indivíduos com o haplótipo em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o haplótipo em heterozigose; 4/4, indivíduos com haplótipo selvagem; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

A frequência combinada de haplótipos variantes NAT1*10, em homozigose e heterozigose, que caracterizam indivíduos acetiladores rápidos, foi maior em pacientes do que em controles com consumo insuficiente de verduras e leguminosas. Indivíduos com os haplótipos variantes NAT1*10 e ingestão insuficiente de verduras e leguminosas estiveram sob risco 3,29 vezes maior que de ACE do que os demais.

Tabela 25: Frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3, NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes e controles estratificados por consumo de frutas

NAT1*4, NAT1*3, NAT1*10 / Consumo de Frutas	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR * (IC 95%)	P valor
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e menor preconizado	110 (43,6)	58 (22,7)	1,00 (referência)	0,63
10/10 e menor preconizado	03 (1,2)	01 (0,4)	1,75 (0,17-17,9)	
4/4+4/3+3/3 e menor preconizado	81 (32,1)	50 (19,6)	1,00 (referência)	0,02
4/10+3/10 + 10/10 e menor preconizado	32 (12,8)	09 (3,5)	2,75 (1,14-6,65)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e maior ou igual preconizado	45 (17,8)	38 (14,9)	1,00 (referência)	0,33
10/10 e menor preconizado	03 (1,2)	01 (0,4)	3,17 (0,29-33,67)	
4/4+4/3+3/3 e maior ou igual preconizado	34 (13,7)	30 (11,8)	1,00 (referência)	0,004
4/10+3/10 + 10/10 e menor preconizado	32 (12,8)	09 (3,5)	4,25 (1,57-11,49)	
4/4+4/3+3/3 e maior ou igual preconizado	32 (12,7)	30 (11,8)	1,00 (referência)	0,26
4/10+3/10 + 10/10 e maior ou igual preconizado	19 (7,5)	09 (3,5)	1,76 (0,65-4,75)	
4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 e maior ou igual preconizado	45 (17,8)	38 (14,9)	1,00 (referência)	0,29
10/10 e maior ou igual preconizado	06 (2,4)	01 (0,4)	3,34 (0,34-32,34)	

10/10 e 3/3, indivíduos com o haplótipo em homocigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o haplótipo em heterocigose; 4/4, indivíduos com haplótipo selvagem; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

A frequência combinada de haplótipos variantes NAT1*10, em homozigose e heterozigose, que caracterizam indivíduos acetiladores rápidos, foi maior em pacientes do que em controles com ingestão escassa de frutas. Indivíduos com os haplótipos variantes NAT1*10 e escassa ingestão de frutas estiveram sob risco 4,25 vezes maior de ACE do que os demais.

4.2. Haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10, do gene *NAT1*, e aspectos clínicos

As frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1*, em pacientes estratificados por aspectos clínicos e por padrão dietético, estão apresentadas nas Tabelas 26 e 27, respectivamente.

Tabela 26: Freqüências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos

Variável	n	Polimorfismos Combinados	
		4/4+4/3+3/3 n (%)	4/10+3/10+10/10 n (%)
Idade	247 *		
< 60	56	46 (18,6)	10 (40,4)
≥ 60	192	131 (53,0)	61 (24,7)
<i>P</i> valor		0,08	
Raça	247 *		
Caucasóide	214	154 (62,3)	57(23,0)
Negróide	33	23 (9,3)	14 (5,7)
<i>P</i> valor		0,24	
Sexo	247 *		
Masculino	141	96 (38,9)	45 (18,2)
Feminino	106	81 (32,8)	26 (10,5)
<i>P</i> valor		0,20	
Tabagismo	243 *		
Tabagista	71	65 (26,7)	35 (14,3)
Ex-Tabagista	54	50 (20,5)	26 (11,0)
Não Tabagistas	118	112 (46)	62 (25,4)
<i>P</i> valor		0,64	
Etilismo	169 *		
Etilista	20	18 (10,8)	12 (7,0)
Ex-etilista	22	21 (12,5)	12 (7,0)
Não etilista	127	117 (69,1)	72 (42,6)
<i>P</i> valor		0,79	

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; 10/10 e 3/3, indivíduos com o polimorfismo em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o polimorfismo em heterozigose; 4/4, indivíduos com os alelos selvagens; os genótipos 10/10, 4/10 e 3/10 correspondem aos acetiladores rápidos; os genótipos 3/3, 4/3 e 4/4 correspondem aos acetiladores lentos

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes com ACE, em relação à idade, à raça, ao sexo e quanto aos hábitos do tabagismo e do etilismo.

Tabela 27: Frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes estratificados por padrão dietético

Variável	n	Haplótipos Isolados			Haplótipos Combinados	
		4/4+4/3+3/3 n (%)	4/10+3/10 n (%)	10/10 n (%)	4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 n (%)	4/10+3/10+10/10 n (%)
Consumo Carne	164 *					
Menor ou igual preconizado	43	20 (46,5)	21 (48,8)	02 (4,7)	41 (95,3)	23 (53,5)
Maior preconizado	121	49 (40,5)	61 (50,4)	11 (9,1)	110 (90,9)	72 (59,5)
<i>P</i> valor			0,58		0,51	0,59
Consumo Verdura	164 *					
Maior ou igual preconizado	19	04 (21,1)	13 (68,4)	02 (10,5)	17 (89,5)	15 (78,9)
Menor preconizado	145	65 (44,8)	69 (47,6)	11(7,6)	134 (92,4)	80 (55,2)
<i>P</i> valor			0,14		0,64	0,65
Consumo Fruta	164 *					
Maior ou igual preconizado	30	14 (46,7)	12 (40,0)	04 (13,3)	26 (86,7)	16 (53,3)
Menor preconizado	134	55 (41,1)	70 (52,2)	09 (6,7)	125 (93,3)	79 (58,9)
<i>P</i> valor			0,32		0,25	0,68

n, número de casos; *, número de casos difere do total (254) devido à impossibilidade de obtenção de dados confiáveis para vários indivíduos; 10/10 e 3/3, indivíduos haplótipos em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos haplótipos em heterozigose; 4/4, indivíduos com o haplótipo selvagem

Freqüências similares dos haplótipos do gene *NAT1* foram observadas em pacientes com consumos distintos de carnes, verduras e frutas.

4.3. Haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 e aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

As freqüências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor estão apresentadas na Tabela 28.

Tabela 28: Frequências dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

Variável	n	Polimorfismos Combinados	
		4/4+4/3+3/3 + 4/10+3/10 n (%)	4/10+3/10 + 10/10 n (%)
Localização Tumor	241 *		
Distal	174	160 (91,9)	86 (49,4)
Proximal / Proximal e Distal	67	64 (95,5)	37 (55,2)
<i>P</i> valor		0,41	0,47
Grau Diferenciação	237 *		
Pouco	14	14 (100,0)	05 (35,7)
Moderado	174	160 (91,9)	94 (54,0)
Bem	49	46 (93,9)	23 (46,9)
<i>P</i> valor		0,50	0,32
Estágio TNM	218 *		
I-II	107	102 (95,3)	57 (53,2)
III-IV	111	100 (90,1)	53 (47,7)
<i>P</i> valor		0,19	0,42

n, número de casos; 10/10 e 3/3, indivíduos com o haplótipo em homozigose; 4/10, 4/3 e 3/10, indivíduos com o haplótipo em heterozigose; 4/4 , indivíduos com haplótipo selvagem; OR, razão das chances; *, OR ajustada por idade, sexo e raça

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos polimorfismos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes com ACE, em relação à localização, ao grau de diferenciação e ao estágio TNM do tumor.

DISCUSSÃO

O CC é uma das neoplasias malignas mais estudadas nas últimas décadas, devido à sua ocorrência e à alta mortalidade a ele atribuída. Sendo assim, seu comportamento biológico está entre os melhores estabelecidos dentre as neoplasias malignas em países do hemisfério norte. Entretanto, vários de seus aspectos, como a etiologia e a fisiopatologia, ainda estão por ser determinados com exatidão, o que justificou a realização deste estudo.

Incidências expressivamente maiores de câncer de cólon e de reto foram registradas pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (PARKIN et al., 2003) nos Estados Unidos da América, Japão, Canadá e Nova Zelândia em relação às descritas em nosso país. Entretanto, as incidências da doença em nosso país foram semelhantes às descritas para países africanos. Embora a incidência do CC pareça menor em países africanos devido ao padrão da dieta, é provável que a incidência do CC no Brasil seja semelhante à dos demais países ocidentais e que a falta de dados reais e atualizados resulte da dificuldade do acesso dos pacientes, ao diagnóstico, a serviços capacitados e, ainda, da falta de notificação dos casos diagnosticados.

O acometimento do CC ocorre, predominantemente, após os 40 anos de idade, sendo a grande maioria em indivíduos com idade igual ou maior que 50 anos (PETERS et al., 1989; SCHOTTENFELD, 1995; ROSSI et al., 2004; SLATTERY et al., 2004). A incidência e a mortalidade do ACE aumentam de forma exponencial com a idade, independentemente do sexo (ROSSI et al., 2004).

Quando os nossos pacientes com ACE foram distribuídos por idade, notamos que a idade média, 59 anos, foi semelhante à observada em pacientes do hemisfério Norte: 60 anos (KATOH et al., 1996; GERTIG et al., 1998).

A distribuição dos nossos casos por raça, mostrou que a doença ocorreu predominantemente em caucasóides, de forma semelhante às descritas em países desenvolvidos (GERTIG et al., 1998; SLATTERY et al., 2002), mas pode ter refletido apenas a distribuição étnica da população que procura assistência médica no Hospital das Clínicas da UNICAMP (18,3% de negróides e 81,7% de não negróides). Porém, também na África do Sul a incidência da doença foi maior para a população caucasóide do que para a negróide (SEGAL et al., 2000),

sugerindo uma influência da raça na incidência da doença. Por outro lado, a incidência do câncer de cólon em americanos de origem africana foi de 32,8 casos/100.000 habitantes/ano, uma das maiores do mundo (SEGAL et al., 2000), sugerindo que o padrão da dieta parece mais importante que o fator racial na origem da doença. Entretanto, vale comentar que a população brasileira é altamente heterogênea e composta predominantemente por indivíduos miscigenados (ALVES-SILVA et al., 2001; CARVALHO-SILVA et al., 2001), o que indica que os estudos que avaliam a raça apenas por meio da observação do biótipo, como o nosso estudo, não são totalmente confiáveis.

Quando os nossos casos foram distribuídos por sexo, observamos um discreto predomínio da doença em pacientes do sexo masculino, semelhante a outros relatos (DEAKIN et al., 1996; GERTIG et al., 1998; COTTON et al., 2000) e aos dados do National Cancer Institute (SEER, 2002).

Também observamos que a distribuição dos nossos pacientes com ACE foi semelhante para tabagistas e ex-tabagistas quando comparados aos não-tabagistas. A associação entre tabagismo e o risco de ocorrência do ACE foi observada, de forma consistente, em estudos controlados conduzidos por Alexandrov et al. (1996) e Freedman et al. (1996). Também Slattery et al. (1998) observaram que aqueles que fumaram mais que um maço por dia tiveram um risco do CC aumentado em aproximadamente 40%, independentemente do “status” atual, número de cigarros fumados por dia, número de maços fumados por ano e número de anos desde que parou de fumar. Em 2004, em novo estudo, Slattery et al. reafirmaram a associação do tabagismo com aumento do risco do CC. Entretanto, nenhuma associação entre o tabagismo e o CC pôde ser obtida em outros estudos (KNEKT et al., 1998; LOKTIONOV et al., 2001), o que indica que esta associação não se encontra definitivamente estabelecida.

Observamos que cerca de 70% dos nossos pacientes apresentou tumores distais. Tumores proximais, em cólon ascendente, transverso e descendente, e combinações de tumores proximais e distais foram identificados nos 30% restantes. Frequências similares de tumores proximais e distais, 38% e 62%, respectivamente, foram descritas para a doença em outros países (ZHONG et al.,

1993; CHENEVIX-TRENCH et al., 1995; DEAKIN et al., 1996; KATOH et al., 1996; GERTIG et al., 1998; ZHANG et al., 1999; COTTON et al., 2000; LOKTIONOV et al., 2001).

Também observamos que cerca de 89% dos tumores dos nossos pacientes foram classificados como bem ou moderadamente diferenciados. Frequências similares de tumores bem ou moderadamente diferenciados, 65 a 88%, foi descrita por Zhang et al. (1999).

Quando os nossos pacientes foram distribuídos de acordo com o estágio da doença, cerca de metade do número deles a apresentou em suas formas mais avançadas, de acordo com descrições prévias (DEAKIN et al., 1996; FREEDMAN et al., 1996; ZHANG et al., 1999).

Comparados os padrões de dieta dos nossos pacientes e controles, foram observadas diferenças altamente significativas no grupo de carnes, quando consideradas agrupadas em seus diferentes tipos (carne bovina, processada, suína e aves) ou de forma isolada. No grupo de pacientes, a média de consumo foi maior do que a observada no grupo controle. Este fato pode ter influenciado na ocorrência da doença, pois relatos anteriores associaram dietas ricas em carne vermelha e gordura saturada e carentes em frutas, vegetais, grãos que contém fibras insolúveis e ácido fólico ao aumento da ocorrência do CC (HILL, 1995; SCHOTTENFELD, 1995; Rossi et al., 2004). Dentro desse contexto, é interessante ressaltar que estudos realizados nos Estados Unidos (EUA), por Peters et al. (1989), Willett et al. (1990), Key et al. (2004), Satia-Abouta et al. (2004), Chan et al. (2005) e Cross et al. (2007); no Hawái, por Le Marchand et al. (2002); na Holanda, por Tiemersma et al. (2002); na Austrália, por English Dr et al. (2004); e na Alemanha, por Lilla et al. (2006), encontraram relação deste padrão de alto consumo de carnes com aumento da ocorrência do CC. Norat et al., em 2005, realizaram estudo do padrão dietético em dez países europeus encontrando relação do aumento do risco de CC relacionado com alto consumo de carnes e associação inversa com o consumo de peixes. A associação também foi observada na Espanha, por Sanz et al. (2004) e Rodrigo & Riestra (2007) e no Reino Unido, por Turner et al. (2004), porém de forma menos significativa.

No Japão, Lee et al., em 2008, relacionaram a ocidentalização dos hábitos alimentares nesse país com altos consumos de carnes e baixos de fibras, ao aumento da incidência de CC. Por outro lado, Kimiura et al. (2007) não encontraram relação do consumo de carnes com a ocorrência de CC para população japonesa, observando apenas que o alto consumo de peixe pode estar relacionado com menores riscos da doença.

Ainda, numa metanálise de 14 estudos realizados nos EUA e Europa, feita por Koushik et al. em 2007, não confirmou essa associação com alta ingestão de carnes.

Quando comparados os padrões de consumo de vegetais, leguminosas e frutas dos pacientes e controles do nosso estudo, não há diferença significativa entre os grupos, salientando que foram menores no grupo de pacientes. O mesmo resultado foi observado por alguns autores, como Voorrips et al. (2000), na Holanda e Michels et al. (2000), nos EUA, que também não encontraram, em grandes estudos prospectivos, relação entre a diminuição do risco de CC e o consumo de vegetais e frutas. Resultado similar foi encontrado na Espanha por Rodrigo et al. (2007) e por Scheneider et al. (2007) na África do Sul.

Outros estudos, como os de Terry et al. (2001), na Suécia, e de Mc Coullough et al. (2003), nos EUA, evidenciaram que altas ingestões de vegetais e frutas não diminuiriam o risco para CC, porém, ingestões muito baixas estariam relacionadas com o aumento desse risco.

Por outro lado, Key et al. (2004), em estudo de metanálise realizado, observaram que consumos de no mínimo 400g/dia de vegetais e frutas estavam relacionados com diminuição do risco de CC na população americana. Turner et al., em 2004, no Reino Unido, e Yeh et al., em 2005, na China, observaram relação de proteção com altas ingestões de vegetais e frutas, em relação ao risco de CC. Ryan-Harshman & Aldoori (2007) também associaram o fator de proteção com o consumo de frutas e verduras, numa revisão com mais de 700 trabalhos, entre os anos de 1996 e 2006.

Nesse caso, em relação ao padrão dietético, nosso grupo de pacientes teve comportamento semelhante ao dos países do hemisfério norte e da Austrália. Este

fato pode ser compreendido pela grande influência norte-americana e dos países europeus e menor dos japoneses em nossos costumes alimentares. Quanto ao consumo de vegetais, leguminosas e frutas por pacientes e controles, observamos que ele foi baixo nos dois grupos, principalmente no dos pacientes. Este fato pode ter influenciado na incidência da doença, como descrito por Terry et al. (2001), na Suécia, e Mc Coullough et al. (2003), nos EUA. A caracterização dietética com altos índices de consumo de carnes e baixos índices de consumo de vegetais/leguminosas, frutas e grãos mostra que o padrão de dieta pode realmente ser um importante fator na ocorrência do CC em nosso meio.

Quando os nossos grupos foram distribuídos de acordo com o etilismo (etilista, ex-etilista, não etilista), não houve relação significativa com a ocorrência do CC, diferentemente do descrito por Akhter et al. (2007) na população japonesa, Bongaerts et al. (2007) na população holandesa, Tsong et al. (2007) em chineses e da metá-análise realizada por Moskal et al. (2007), na qual foram avaliados estudos do período de 1990 a 2005. Neste caso, é importante ressaltar que em todos esses estudos a relação do aumento do risco de CC e ingestão de álcool foi dependente da dose, sendo significativa a partir da ingestão mínima de 100g de álcool/dia (7 doses/dia), o que pode explicar a diferença em relação aos nossos resultados, nos quais consideramos 80g/dia (5 doses/dia).

Em seu conjunto, os resultados deste estudo indicam que os nossos pacientes com CC apresentaram características clínicas e anátomo-patológicas do tumor semelhantes às da doença em países desenvolvidos e, portanto, constituíram um grupo representativo da doença, em nosso meio.

Em relação à distribuição de acordo com o polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, as amostras de nossos controles avaliadas para este polimorfismo estiveram no 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 CC. As amostras dos pacientes também confirmaram a expectativa de Hardy-Weinberg no locus T6235C do gene *CYP1A1*.

Quando consideramos para comparação os genótipos TT, TC e CC em nosso grupo de pacientes e controles, não encontramos diferenças significativas na distribuição das variações heterozigóticas ou homozigóticas, quando analisadas sejam de forma isolada ou agrupada. Conseqüentemente, observamos risco de ocorrência da doença similar em indivíduos com os referidos genótipos. Resultados semelhantes aos nossos foram evidenciados em estudos realizados na população norte-americana, por Ishibe et al. (2000), Murtaugh et al. (2004) e Slattery et al. (2004); em australianos, por Butler (2001); por Yez & Parry (2002) e Bethke et al. (2007), no Reino Unido; na metanálise realizada por Chen (2005); e por Little et al. (2006), na Escócia. Entretanto, Sivaraman et al. (1994) encontraram relação do genótipo variante em homozigose com o risco aumentado do CC, em estudo realizado no Hawaí. Por outro lado, em dois estudos da população chinesa, realizados por Chen et al. (2005) e Fan et al. (2006), houve diminuição do risco com o genótipo variante em homozigose e em heterozigose e homozigose respectivamente. Esses dados mostram que o papel do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* na carcinogênese do CC é muito variado, podendo essas variações serem explicadas pelas modificações do meio ambiente.

Examinamos também, as associações do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* com algumas variáveis clínicas, em pacientes com ACE. Não encontramos diferenças nas freqüências das variantes heterozigóticas ou homozigóticas deste gene, em pacientes estratificados por idade (menor do que 60 anos, maior do que 60 anos), sexo (masculino, feminino), etnia, hábito de fumar (tabagistas, não tabagistas e ex- tabagistas) e etilismo (etilistas, não etilistas e ex-etilistas). Esses resultados foram sustentados por outros estudos, nos quais foram obtidas freqüência similares das variações do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, em pacientes estratificados por idade (LITTLE et al., 2006; ISHIBE et al., 2000; BUTLER, 2001; YEZ & PARRY, 2002;), sexo (LITTLE et al., 2006; ISHIBE et al., 2000; BUTLER, 2001; YEZ & PARRY, 2002;).

Ainda, não houve evidência da interação entre as variantes dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, exposição ao cigarro e ao etilismo e CC em estudos feitos por Sivaraman et al. (1994) e Little et al. (2006). Porém,

Slattery et al. (2004) encontraram uma fraca associação entre o tabagismo e as variantes dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*.

Analisamos também as associações do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* com o padrão dietético dos nossos pacientes e observamos que os genótipos variantes foram mais freqüentes naqueles com ingestão de verduras e leguminosas menor que o preconizado significativa quando comparadas, de forma combinada, as variantes em homozigose e em heterozigose em relação ao genótipo selvagem, com ingestão de verduras e leguminosas menor que a preconizada.

Foram também analisados o padrão dietético para os diferentes tipos de alimentos e suas preconizações de consumo, com as associações do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* comparando os grupos de pacientes e controles. Observamos maior risco de ocorrência do CC, em indivíduos com genótipos variantes, em homozigose e heterozigose, e com consumo de carnes acima do preconizado. Esses indivíduos apresentaram risco 3,8 vezes maior de ocorrência de CC em relação aos demais.

A associação de alto consumo de carnes e as variantes do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* com aumento do risco de CC, também foi observada por Little et al. (2006), na Escócia. Nesse mesmo estudo foi encontrada relação das variantes do polimorfismo T6235C e baixo consumo de verduras com o aumento do risco de CC.

Por outro lado, Little et al. (2000), nos EUA, evidenciaram aumento do risco de CC com as variantes do polimorfismo e ingestão aumentada de carnes somente para indivíduos com sessenta anos ou mais.

Esses resultados mostram que o padrão dietético pode ser determinante para o papel das variantes do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* pois, quando associadas as formas variantes que codificam enzimas com maior atividade a uma oferta maior de metabólitos, através da ingestão maior de carnes, pode proporcionar uma produção maior de carcinógenos com aumento do risco para o CC.

Nós também examinamos as associações do polimorfismo do gene *CYP1A1* com algumas variáveis anátomo-patológicas do tumor, em pacientes com CC, e também não encontramos diferenças nas freqüências das variações homozigótica e heterozigótica do gene em pacientes estratificados pela localização do tumor (proximal ou distal), grau de diferenciação do tumor (pouco, moderado ou bem diferenciado) e estágio (TNM: I+II ou III+IV).

Resultados similares foram previamente observados em pacientes com ACE, estratificados pela localização do tumor (ISHIBE et al., 2000; BUTLER, 2001; SLATTERY et al., 2004), o grau de diferenciação do tumor (ISHIBE et al., 2000; BUTLER, 2001; SLATTERY et al., 2004) e o estágio do tumor (ISHIBE et al., 2000; BUTLER, 2001; SLATTERY et al., 2004).

Em relação à distribuição de acordo com o polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, as amostras de nossos controles avaliadas para este polimorfismo estiveram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Sendo assim, os controles foram adequados para a avaliação da freqüência do polimorfismo gênico na população geral e, conseqüentemente, para a comparação com a freqüência obtida em pacientes com CC. Em contraste, as amostras dos pacientes não confirmaram a expectativa de Hardy-Weinberg para o locus A4889G do gene *CYP1A1*.

Quando consideramos para comparação os genótipos AA, AG e GG em nosso grupo de pacientes e controles, não encontramos diferenças significativas na distribuição das variações heterozigóticas ou homozigóticas, quando analisadas sejam de forma isolada ou agrupada. Conseqüentemente, observamos risco de ocorrência da doença similar em indivíduos com os referidos genótipos. Resultados semelhantes aos nossos foram evidenciados em estudos realizados por Sivaraman et al. (1994), no Hawai, Butler et al. (2001), na Austrália, Murtaugh et al. (2004), nos EUA, Slattery et al. (2004), nos EUA, Chen et al. (2005), Little et al. (2006), na Escócia, e Bethke et al. (2007) no Reino Unido e Kiss et al. (2000), na Hungria, evidenciaram associação das variantes com risco maior de CC.

Por outro lado, Sachse et al. (2002), observaram aumento do risco de CC em indivíduos com a variante GG na população do Reino Unido. Mais recentemente, em 2007, Yeh et al. encontraram aumento significativo para o CC, em indivíduos com essa variante em homozigose, na população chinesa.

Examinamos também as associações do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* com algumas variáveis clínicas, em pacientes com ACE. Não encontramos diferenças nas freqüências das variantes heterozigóticas ou homozigóticas deste gene em pacientes estratificados por idade (menor do que 60 anos, maior do que 60 anos), sexo (masculino, feminino), origem étnica (caucasóides, negróides, asiáticos), hábito de fumar (tabagistas, não tabagistas, ex-tabagistas) e etilismo (etilistas, não etilistas, ex-etilistas).

Esses resultados foram sustentados por outros estudos, nos quais foram obtidas freqüências similares das variações do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por idade (SIVARAMAN et al., 1994; KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; LITTLE et al., 2006; YEH et al., 2007), sexo (SIVARAMAN et al., 1994; KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; LITTLE et al., 2006; YEH et al., 2007).

Ainda, não houve evidência da interação entre as variantes dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* e a exposição ao cigarro (SIVARAMAN et al., 1994; LITTLE et al., 2006) e ao etilismo (SIVARAMAN et al., 1994) com o ACE. Por outro lado, Slattery et al. (2004) encontraram fraca associação em relação ao tabagismo.

As associações do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* também foram analisadas com o padrão dietético dos nossos pacientes e não observamos diferenças significativas quando comparadas, de formas isoladas ou agrupadas em relação aos diversos grupos alimentares.

Foram também analisados o padrão dietético para os diferentes tipos de alimentos e suas preconizações de consumo com as associações do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, comparando os grupos de pacientes e controles. Observamos que os genótipos variantes foram mais freqüentes em pacientes do que em controles com alto consumo de carnes. Resultados similares a esses

foram encontrados por Little et al. (2006), na Escócia, havendo aumento do risco de CC quando associadas as variações em homozigose ou heterozigose do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* com altas ingestões de carnes. Nesse caso, observamos que mais uma vez o padrão alimentar tem influência muito importante, alterando o risco da doença quando associamos as variações genéticas e alto consumo de carnes.

Nós também examinamos as associações do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* com algumas variáveis anátomo-patológicas do tumor, em pacientes com CC, e também não encontramos diferenças nas frequências das variações homozigótica e heterozigótica do gene em pacientes estratificados pela localização do tumor (proximal, distal), grau de diferenciação do tumor (pouco, moderado e bem diferenciado) e estágio (TNM: I+II, III+IV).

Resultados similares foram previamente observados em pacientes com ACE estratificados pela localização do tumor (KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; SLATTERY et al., 2004; LITTLE et al., 2006), o grau de diferenciação do tumor (KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; SLATTERY et al., 2004; LITTLE et al., 2006), e o estágio do tumor (KISS et al., 2000; SACHSE et al., 2002; SLATTERY et al., 2004; LITTLE et al., 2006).

Já na avaliação dos haplótipos NAT1*4, NAT1*3 e NAT1*10 do gene *NAT1*, as amostras de nossos controles avaliadas para este polimorfismo também estiveram no 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 CC. As amostras dos pacientes também confirmaram a expectativa de Hardy-Weinberg.

Quando analisamos os resultados para os polimorfismos do gene *NAT1*, é importante ressaltar que a associação com o risco de CC se faz através da análise dos fenótipos codificados, sendo considerados acetiladores rápidos todos indivíduos com a presença de ao menos uma variação NAT1*10. Portanto, as variantes em homozigose ou heterozigose para o polimorfismo NAT1*10 representam esse grupo de acetiladores rápidos.

Em relação à distribuição dos haplótipos do gene *NAT1*, em nosso grupo de pacientes e controles, encontramos diferença significativa na distribuição das variações heterozigóticas e homozigóticas (que representam os acetiladores rápidos) quando comparadas com as formas codificadoras de acetiladores lentos, tendo os portadores da variação NAT1*10 risco 1.7 vezes maior de CC. Resultados similares foram encontrados por Bell et al. (1995), na Inglaterra, e Stefano et al. (2005), na Espanha.

Entretanto, Chen et al. (1998), nos EUA; Yoshioka et al. (1999) e Katoh et al. (2000), no Japão; Zhang et al. (2002), na China, Van Der Hel et al. (2003) na Holanda; Kiss et al. (2004), na Hungria, Chen et al. (2005), na China, Lilla et al. (2006), na Alemanha, Mahid et al. (2007) e Butler et al. (2008), ambos nos EUA, em seus estudos, não encontraram relação das variações do polimorfismo NAT1*10 do gene *NAT1* com o CC.

Examinamos também as associações dos haplótipos do gene *NAT1* com algumas variáveis clínicas, em pacientes com ACE. Não encontramos diferenças nas freqüências das variantes heterozigóticas ou homozigóticas deste gene em pacientes estratificados por idade (menor do que 60 anos, maior do que 60 anos), sexo (masculino, feminino), origem étnica (caucasóides, negróides, asiáticos), hábito de fumar (tabagistas, não tabagistas e ex- tabagistas) e etilismo (etilistas, não etilistas e ex-etilistas).

Esses resultados foram sustentados por outros estudos, nos quais foram obtidas freqüência similares das variações do haplótipo NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes estratificados por idade (KATOH et al.,2000; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; LILLA et al., 2006; BUTLER et al.,2007).

Ainda, não houve evidência da interação entre as variantes dos genótipos do polimorfismo NAT1*10 do gene *NAT1* e a exposição ao cigarro (KATOH et al.,2000; BUTLER et al., 2001; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; BUTLER et al., 2008) com o CC. Por outro lado, Lilla et al. (2006) encontraram associação em relação ao tabagismo com consumo de 30 maços ou mais por ano.

Analizamos também as associações dos fenótipos acetiladores rápidos e lentos dos polimorfismos do gene *NAT1* com o padrão dietético dos nossos pacientes. Observamos associação importante em acetiladores rápidos pacientes com consumo de carnes acima do preconizado.

Quando analisados o padrão dietético para os diferentes tipos de alimentos e suas preconizações de consumo com os grupos de acetiladores rápidos e lentos codificados pelos polimorfismos do gene *NAT1* entre pacientes e controles, encontramos diferenças importantes. A principal associação ocorreu quando comparados os acetiladores rápidos com consumo maior que o preconizado e os lentos com consumo menor que o preconizado para carnes. Houve diferença importante, com risco aumentado de CC em 35 vezes para o primeiro grupo. Também, quando comparamos os acetiladores rápidos com consumo maior que o preconizado com os lentos também de igual consumo, encontramos diferença significativa, porém o risco de CC para esses indivíduos em relação aos acetiladores lentos foi apenas cinco vezes maior. Ainda, analisando o consumo de carnes também encontramos diferença significativa quando comparados acetiladores rápidos e lentos, ambos com consumo menor que o preconizado, tendo o primeiro grupo risco aumentado em 2,3 vezes em relação ao segundo.

Resultados com a associação positiva entre o acetilador *NAT1**10 e ingestão de carnes também foram encontrados por Chen et al. (1998) e Butler et al. (2008), em estudos na população americana, e por Lilla et al. (2006), na Alemanha.

Analisando em relação ao consumo de verduras e leguminosas, também encontramos diferença significativa quando comparamos os *NAT1* acetiladores rápidos com os lentos para consumo menor que o preconizado, tendo o primeiro grupo risco aumentado em 2,3 vezes em relação ao segundo. Essa diferença também ocorreu quando comparados os acetiladores rápidos com menor consumo que o preconizado e os lentos com maior consumo que o preconizado, sendo que, neste caso, o risco para os *NAT1* acetiladores rápidos foi maior em 3,3 vezes.

Semelhantes diferenças ocorreram quando avaliadas as associações dos polimorfismos do gene *NAT1* com o consumo de frutas. Indivíduos acetiladores rápidos com consumo menor que o preconizado tiveram risco aumentado em quatro vezes em relação aos acetiladores lentos com consumo maior que o preconizado. A diferença também ocorreu quando comparamos esses grupos com menor consumo que o preconizado em ambos, observando risco maior 2,7 vezes para o grupo *NAT1* acetilador rápido.

Esses resultados mostram que a influência do haplótipo *NAT1**10 na nossa população pode ser um fator realmente importante no risco de CC e que esta influência é muito relacionada aos padrões dietéticos, pois observamos que os maiores riscos ocorrem nas associações dos acetiladores rápidos com alto consumo de carnes e baixo de verduras e frutas, e que esse risco vai diminuindo à medida que o consumo de carnes diminui e o de verduras e frutas aumenta. Isso demonstra que, para essa população, a adequação dos padrões dietéticos pode ser determinante na ocorrência da doença.

Nós também examinamos as associações do haplótipo *NAT1**10 do gene *NAT1* com algumas variáveis anátomo-patológicas do tumor, em pacientes com CC, e não encontramos diferenças nas freqüências das variações homozigótica e heterozigótica do gene em pacientes estratificados pela localização do tumor (proximal, distal), grau de diferenciação do tumor (pouco, moderado e bem diferenciado) e estágio (TNM: I+II, III+IV).

Resultados similares foram previamente observados em pacientes com CC estratificados pela localização do tumor (KATOH et al., 2000; BUTLER et al., 2001; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; BUTLER et al., 2008), o grau de diferenciação do tumor (KATOH et al., 2000; BUTLER et al., 2001; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; BUTLER et al., 2008) e o estágio do tumor (KATOH et al., 2000; BUTLER et al., 2001; VAN DER HEL et al., 2003; KISS et al., 2004; BUTLER et al., 2008).

Em resumo, os resultados desse estudo sugerem que o haplótipo *NAT1**10, do gene *NAT1*, está associado ao risco aumentado de CC nessa amostra da população em nosso país. Importante ainda ressaltar que esse risco está

intimamente associado com o padrão de dieta com elevado consumo de carnes e baixo consumo de verduras, leguminosas, frutas e fibras integrais. Ressaltando que, no caso do consumo elevado de carnes, mesmo os polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1*, que não apresentaram aumento do risco analisados isoladamente, passaram a ter associação positiva em suas variações em homozigose e heterozigose. A confirmação destas associações em indivíduos de outras regiões do país, através de um estudo multicêntrico, seria de fundamental importância para nossa população pois, dessa forma, programas simples de prevenção, como orientação dietética preconizando baixo consumo de carnes e maior consumo de vegetais, leguminosas e frutas, poderiam ser realizados no país.

Também, a confirmação destas associações em indivíduos de outras populações é de fundamental importância para dar suporte à utilização destas genotipagens como um teste preditivo para a identificação de indivíduos com maior risco para doença. Lembrando que a maioria dos estudos em outras populações não associou o padrão dietético que, como visto, foi de importância determinante, o teste possibilitaria a identificação de grupos de indivíduos com alto risco de ocorrência da doença que poderiam ser beneficiados por exames para a identificação precoce da doença, como a colonoscopia. Além disso, esses grupos iriam receber orientações rigorosas em relação aos comportamentos alimentares, ressaltando a importância da relação entre o padrão dietético e os riscos aumentados do CC.

CONCLUSÕES

A observação de frequências maiores dos genótipos TC e CC do polimorfismo T6235C e AG e GG do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes do que em controles com ingestão excessiva de carnes, sugere que a associação dos genótipos com o padrão dietético aumenta o risco de ACE em nosso meio.

A presença em maior frequência do haplótipo NAT1*10 em pacientes com CC do que em controles, sugere que o haplótipo do gene *NAT1* influencia o risco da doença.

A observação de frequência maior do haplótipo NAT1*10 do gene *NAT1* em pacientes do que em controles com alto consumo de carnes e baixa ingestão de verduras e frutas, sugere que a associação dos genótipos com padrão dietético aumenta o risco de ACE em nosso meio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUNDEZ, J.A. – Cytochrome p450 gene polymorphism and cancer. **Curr Drug Metab**, 5(3): 211-24, 2004.
- AKHTER, M.; KURIYAMA, S.; NAKAYA, N., SHIMAZU, T.; OHMORI., K.; NISHINO, Y., TSUBONO, Y.; FUKAO, A.; TSUJI, I. – Alcohol consumption is associated with an increased risk of distal colon and rectal cancer in Japanese men: the Miyagi Cohort Study. **Eur J Cancer**, 43(2): 383-90, 2007
- ALEXANDROV, K.; ROJAS, M.; KADLUBAR, F.F.; LANG, N.P.; BARTSCH, H. – Evidence of anti-benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adduct formation in human colon mucosa. **Carcinogenesis**, 17(9): 2081-83, 1996.
- ALVES-SILVA, J.; DA SILVA-SANTOS, M.; GUIMARAES, P.E.; FERREIRA, A.C.; BANDELT, H.J.; PENA, S.D. – The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **Am J Hum Genet**, 67: 444-61, 2000.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts and figures**. Atlanta, Estados Unidos da América, 2005. Disponível em: <<http://www.cancer.org>> Acesso em: 27 dez. 2005.
- BEGG, C.B. – Statistical considerations in the interpretation of clinical trials. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 415-21.
- BEIGUELMAN, B – **Dinâmica dos Genes nas Famílias e Populações**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 2.ed. p. 1-472, 1995.
- BELL, D.A; STEPHENS, E.A; CASTRANIO, T.; UMBACH, D.M.; WATSON, M.; DEAKIN, M.; ELDER, J.; HENDRICKSE, C.; DUNCAN, H.; STRANGE, R.C. – Polyadenylation polymorphism in the acetyltransferase 1 gene (NAT1) increases risk of colorectal cancer. **Cancer Res**, 55: 3537-42, 1995.
- BETHKE, L.; WEBB, E.; SELICK, G.; RUDD, M.; PENEGAR, S.; WITHNEY, L.; QUERESHI, M.; HOULSTON, R. - Polymorphisms in the cytochrome P450 genes CYP1A2, CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP11A1, CYP17A1, CYP19A1 and colorectal cancer risk. **BMC Cancer**, 7:123, 2007.
- BONGAERTS, B.W.; de GOEJI, A.F.; de VOGEL, S.; van den BRANDT, P.A.; GOLDBOHN, R.A.; WEIJENBERG, M.P. – Alcohol consumption and distinct molecular pathways to colorectal cancer. **Br J Nutr**, 97(3): 430-4, 2007.
- BROCKTON, N.; LITTLE, J.; SHARP, L.; COTTON, S.C. – N-Acetyltransferase polymorphisms and colorectal cancer: A HuGE Review. **Am J Epidemiol**, 15 (9): 846-61, 2000.
- BRODERS, A.C. – The grading of carcinoma. **Minn Med**, 8: 726-30, 1925.

- BURT, R.W.; BISHOP, D.T.; LYNCH, H.T.; ROZEN, P.; WINAWER, S.J. – Risk and surveillance of individuals with heritable factors for colorectal cancer. WHO Collaborating Centre for the Prevention of Colorectal Cancer. **Bull World Health Organ**, **68**(5): 655-665, 1990.
- BURT, R.W. & GRODEN, J. – The genetic and molecular diagnosis of adenomatous polyposis coli. **Gastroenterology**, **104**: 1211-14, 1993.
- BURT, R.W. – Inheritance – General Issues. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 51-59.
- BUTLER, W.J.; RYAN, P.; ROBERTS-THOMSON, I.C. – Metabolic genotypes and risk for colorectal cancer. **J Gastroenterol Hepatol**, **16**(6): 631-35, 2001.
- BUTLER, L.M.; MILIKAN, R.C.; SINHA, R.; KEKU, T.O.; WINKEL, S.; HARLAN, B.; EATON, A.; GAMMON, M.D.; SANDLER, R.S. – Modification by N-acetyltransferase 1 genotype on the association between dietary heterocyclic amines and colon cancer in a multiethnic study. **Mutat Res**, **638**: 162-74, 2008.
- CARVALHO-SILVA, D.R.; SANTOS, F.R.; ROCHA, J.; PENA, S.D.J. – The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **Am J Hum Genet**, **68**: 281-6, 2001.
- 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**, **56**: 4965-9, 1996.
- CHAN, A.T.; TRANAH, G.J.; GIOVANNUCCI, E.L.; WILLETT, W.C.; HUNTER, D.J.; FUCHS, C.S. – Prospective study of N-acetyltransferase-2 genotypes, meat intake, smoking and risk of colorectal cancer. **Int J Cancer**, **115**: 648-52, 2005.
- CHEN, J.; STAMPFER, M.J.; HOUGH, H.L.; GARCIA-CLOSAS, M.; WILLETT, W.C.; HENNEKENS, C.H.; KELSEY, K.T.; HUNTER, D.J. – A prospective study of N-acetyltransferase genotype, red meat intake, and risk of colorectal cancer. **Cancer Res**, **58**: 3307-11, 1998.
- CHEN, K.; JIANG, Q.T.; HE, H.Q. – Relationship between metabolic enzyme polymorphism and colorectal cancer. **World J Gastroenterol**, **11**(3): 331-5, 2005.
- CHENEVIX-TRENCH, G.; YOUNG, J.; COGGAN, M.; BOARD, P. – Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms: susceptibility to colon cancer and age of onset. **Carcinogenesis**, **16**(7): 1655-7, 1995.
- COHEN, A.M. – Overview of Colorectal Cancer Treatment. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 413-4.
- COTTON, S.C.; SHARP, L.; LITTLE, J.; BROCKTON, N. – Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGe review. **Am J Epidemiol**, **151**: 7-32, 2000.

- CROSS, A.J.; LEITZMANN, M.F.; GAIL, M.H.; HOLLENBECK, A.R.; SCHATZKIN, A.; SINHA, R. – A prospective study of red and processed meat intake in relation to cancer risk. **PLoS Med**, **4**(12): 01-12, 2007.
- CUNHA, A.J.U. – Aspectos genéticos relacionados ao câncer do estômago e do intestino grosso. In: Habr-Gama, A; Gama-Rodrigues, J.J.; Betarello, A. **Câncer do Estômago e do Intestino Grosso: Prevenção e Detecção**. São Paulo, editora Pedagógica e Universitária Ltda. 1980. p. 43-57.
- DE LEÓN, J.H; VATSIS, K.P; WEBER, W.W. – Characterization of naturally occurring and recombinant human N-acetyltransferase variants encoded by *NAT1**. **Molecular Pharmacology**, **58**(2): 288-99, 2000.
- DE WAZIERS, I.; CUGNENC, P.H.; BERGER, A.; LEROUX, J.P.; BEAUNE, P.H. – Drug metabolizing enzyme expression in human normal, peritumoral and tumoral colorectal tissue samples. **Carcinogenesis**, **12**(5): 905-9, 1991.
- DEAKIN, M.; ELDER, J.; HENDRICKSE, C.; PECKHAN, D.; BALDWIN, D.; PANTIN, C.; WILD, N.; LEOPARD, P.; BELL, D.A.; JONES, P.; DUNCAN, H.; BRANNIGAN, K.; ALLDERSEA, J.; FRYER, A.A.; STRANGE, R.C. – Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. **Carcinogenesis**, **17**(4): 881-4, 1996.
- DUNCAN, B.B.; SCHMIDT, M.I.; POLANCZYK, C.A.; MENGUE, S.S. – Altos coeficientes de mortalidade em populações adultas brasileiras: uma comparação internacional. **Rev Assoc Med Bras**, **38**(3): 138-44, 1992.
- ENGLISH, D.R.; MACLINNIS, R.J.; HODGE, A.M.; HOPPER, J.L.; HAYDON, A.M.; GILES, G.G. – Red meat, chicken and fish consumption and risk of colorectal cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **13**(9): 1509-14, 2004.
- FAN, C.H.; JIN, M.J.; ZHANG, Y.; SONG, L.; XU, H.; JIANG, Q.T.; YU, W.P.; CHEN, K. – Association between genetic polymorphisms of metabolic enzymes and susceptibility of colorectal cancer. **Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi**, **40**(1): 13-7, 2006.
- FEARON, E.R.; HAMILTON S.R.; VOGELSTEIN, B. – Clonal analysis of human colorectal tumors. **Science**, **238**: 193-7, 1987.
- FERREIRA, C.G. & ROCHA, J.C. – Câncer Colorretal. In: Ferreira, C.G. & Rocha, J.C. – **Oncologia Molecular**. São Paulo, Atheneu, 2004. p. 171-81.
- FIELDING, P.P. – Staging Systems. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 207-215.
- FINLEY, G.G.; SCHULZ, N.T.; HILL, S.A.; GEISER, J.R.; PIPAS, J.M.; MEISLER, A.I. – Expression of the myc gene family in different stages of human colorectal cancer. **Oncogene**, **2**(8): 963-971, 1989.

- FREEDMAN, A.N.; MICHALEK, A.M.; MARSHALL, J.R.; METTLIN, C.J.; PETRELLI, N.J.; ZHANG, Z.F.; BLACK, J.D.; STACHIDANAND, S.; ASIRWATHAM, J.E. – The relationship between smoking exposure and p53 overexpression in colorectal cancer. **Br J Cancer**, **73**: 902-8, 1996.
- GAMBARDELLA, A.M.D.; FRUTUOSO, M.F.P.; FRANCHI, C. – Prática alimentar de adolescentes. **Rev Nutr Campinas**, **12**(1): 55-63, 1999.
- GARTE, S. – The role of ethnicity in cancer susceptibility gene polymorphisms: the example of *CYP1A1*. **Carcinogenesis**, **19**(8): 1329-32, 1998.
- GERHARDSSON DE VERDIER, M.; HAGMAN, U.; PETERS, R.K.; STEINECK, G.; OVERVIK, E. – Meat, cooking methods and colorectal cancer: a case-referent study in Stockholm. **Int J Cancer**, **49**(4): 520-5, 1991.
- GERTIG, D.M.; STAMPFER, M.; HAIMAN, C.; HENNEKENS, C.H.; KELSEY, K.; HUNTER, D.J. – Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a prospective study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **7**(11): 1001-5, 1998.
- GIOVANNUCCI, E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. **J Nutr**, **132**(8): 2350-5, 2002.
- GOUVEIA, G.R.; BRUNO, L.P.C. **Manual de contagem de carboidratos**. 2001.
- GOUVEIA, J.P.; RAMALHEIRA, C.; ROBALO, M.T.; BORGES, C.J.; ALMEIDA, J.R. – **Inventário de Expectativa e Crença Pessoais sobre o Alcool**. Casa do Psicólogo, São Paulo, 1996.
- GREENE F.L.; PAGE, D.L.; FLEMING I.D.; FRITZ, A.; BALCH, C.M.; HALLER D.J.; MORROW, M. – **Colon and Rectum**. In: Greene F.L.; Page, D.L.; Fleming I.D.; Fritz, A.; Balch, C.M.; Haller D.J.; Morrow, M. – **Cancer Staging manual**. Chicago, Springer, 2002. p 113-23.
- GUILLEM, J.G.; PATY, P.B.; ROSEN, N.; Molecular biology of colorectal cancer. In: Guillem, J.G.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 149-56.
- HARDEN, D.G. – Inherited susceptibility to mutation. In: Phillips, D.H. – **Environmental Mutagenesis**. Oxford, Bios. Scientific., 1995. p. 61-81.
- HAWK, E.T.; LIMBURG, P.J.; VINER, J.L. – Epidemiology and prevention of colorectal cancer. **Surg Clin North Am**, **82**(5): 905-41, 2002.
- HAYASHI, S.I.; WATANABE, J.; NAKASHI, K. – Interindividual differences in expression of human Ah receptor and related P450 genes. **Carcinogenesis**, **15**: 801-6, 1994.
- HENGSTLER, J.G.; ARAND, M.; HERRERO, M.E.; OESCH, F. – Polymorphisms of N-acetyltransferases, glutathione S-transferases, microsomal epoxide, hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility. **Recent Results Cancer Res**, **154**: 47-85, 1998.

- HERRERO-JIMENEZ, P.; TOMITA-MITCHEL, A.; FURTH, E.E.; MORGENTHALER, S.; THILLY, W.G. – Population risk and physiological rate parameters for colon cancer. The union of an explicit model for carcinogenesis with the public health records of the United States. **Mutat Res**, **447**: 73-116, 2000.
- HILL, M.J. Dietary factors – The intestinal milieu. In: Cohen, A.M.; Winaver, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. P.27-34.
- HILLMAN, R.S.; STEINBERG, S.E. – The effects of alcohol on folate metabolism. **Ann Rev Med**, **33**: 345-54, 1982.
- HIRVONEN, A. – Polymorphic NATs and cancer predisposition. In: Vineis, P.; Malatas, N.; Lang, M.; D'Érico, A.; Caporosa, N.; Cuzick, J.; Bofetta, P. Eds. – **Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer**. Lyon, France: IARC Sci Publ, 1999. p. 251-70.
- HOMANN, N.; TILLONEN, J.; SALASPURO, M. – Microbially produced acetaldehyde from ethanol may increase the risk of colon cancer via folate deficiency. **Int J Cancer**, **86**:169-73, 2000.
- HOULSTON, R.S.; PETO, J. – Genetics of common cancer. In: Eeles, R.A.; Ponder, B.; Easton, D.E.; Horwich, A. – **Inherited Predisposition to Cancer**. London, Chapman Hall Medical, 1996. p. 208-26.
- HOULSTON, R.S.; TOMLINSON, P.M. – Polymorphisms and colorectal risk. **Gastroenterology**, **121**: 282-301, 2001.
- IBGE – Censos demográficos e contagem populacional; para os anos intercensitários, estimativas preliminares dos totais populacionais, estratificadas por idade e sexo pelo MS/SE/Datasus. Secretaria Estadual de Saúde. Fundação Oncocentro de São Paulo, 2006.
- IONOV, Y.; PEINADO, M.A.; MALKHOSYAN, S.; SHIBATA, D.; PREUCHO, M. – Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequence reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. **Nature**, **363**(6429): 558-61, 1993.
- ISHIBE, N.; STAMPFER, M.; HUNTER, J.D.; HENNEKENS, C.; KELSEY, T.K. – A Prospective study of Cytochrome P450 1A1 polymorphisms and colorectal cancer risk in men. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **9**: 855-6, 2000.
- JEMAL, A.; SIEGEL, R.; WARD, E.; MURRAY, T.; XU, J.; THUN, J.M. – **Cancer Statistics, 2007**. CA Cancer J Clin., 57: 43-66, 2007.
- KATOH, T.; BOISSY, R.; NAGATA, N.; KITAGAWA, K.; KURODA, Y.; ITOH, H.; KAWAMOTO, T.; BELL, D.A. – Inherited polymorphism in the N-acetyltransferase 1 (NAT1) and 2 (NAT2) genes and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. **Int J Cancer**, **85**(1): 46-9, 2000.

- KAWARIJII, K.; NAKACHI, K.; IMAI, K. – Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450A1 gene. **FEBS Lett**, **263**: 131-3, 1990.
- KAWARIJII, K. In: Vineis, P.; Malatas, N.; Lang, M.; D'Érico, A.; Caporosa, N.; Cuzick, J.; Bofetta, P. Eds – **Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer**. Lyon, France: IARC Sci Publ, 1999. p. 159-72.
- KEY, T.J.; SCHATZKIN, A.; WILLETT, W.C.; ALLEN, N.E.; SPENCER, E.A.; TRAVIS, R.C. – Diet, nutrition and the prevention of cancer. **Public Health Nutr**, **7**(1A): 187-200, 2004.
- KIMURA, Y.; KONO, S.; TOYOMURA, K.; NAGANO, J.; MIZOUE, T.; MOORE, M.A.; MIBU, R.; TANAKA, M.; KAKEJI, Y.; MAEHARA, Y.; OKAMURA, T.; IKEJIRI, K.; FUTAMI, K.; YASUNAMI, Y.; MAEKAWA, T.; TAKENAKA, K.; ICHIMIYA, H.; IMAIZUMI, N. – Meat, fish and fat intake in relation to subsite-specific risk of colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study. **Cancer Sci**, **98**(4): 590-7, 2007.
- KINZLER, K.W. & VOGELSTEIN, B. – Lessons from hereditary colorectal cancer. **Cell**, **87**: 159-170, 1996.
- KISS, I.; SANDOR, J.; PAJAKOS, G.; BOGNER, B.; HEGEDEUS, G.; EMBER, I. – Colorectal cancer risk in relation to genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1, 2E1, and glutathione S-transferase M1 enzymes. **Anticancer Res**, **20**(1B) : 519-22, 2000.
- KISS, I; NÉMETH, A.; BOGNER, B.; PAJKOS, G.; ORSÓS, Z.; SÁNDOR, J.; CSEJTEY, A.; FALUHELYI, Z.; RODLER, I.; EMBER, I. – Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer. **Anticancer Res**, **24**(6): 3965-70, 2004.
- KNEKT, P.; HAKAMA, M.; JARVINEN, R.; PUKALLA, E.; HELIOVAARA, M. – Smoking and risk of colorectal cancer. **Br J Haematol**, **78**(1): 136-139, 1998.
- KOUSHIK, A.; HUNTER, D.J.; SPIEGELMAN, D.; BEESON, W.L.; VAN DEN BRANDT, P.A.; BURING, J.E.; CALLE, E.E.; CHO, E.; FRASER, G.E.; FREUDENHEIM, J.L.; FUCHS, C.S.; GIOVANNUCCI, E.L.; GOLDBOHN, R.A.; HARNACK, L.; JACOBS JR., D.R.; KATO, I.; KROGH, V.; LARSSON, S.C.; LEITZMANN, M.F.; MARSHALL, J.R.; McCULLOUGH, M.L.; MILLER, A.B.; PIETINEN, P.; ROHAN, T.E.; SCHATZKIN, A.; SIERI, S.; VIRTANEN, M.J.; WOLK, A.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A.; ZHANG, S.M.; SMITH-WARNER, S.A. – Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. **J Natl Cancer Inst**, **99**(19): 1471-1483, 2007.
- LANDI, S.; GEMIGNANI, F.; MORENO, V.; GIOIA-PATRICOLA, L.; CHABRIER, A.; GUINO, E.; NAVARRO, M.; DE OCA, J.; CAPELLÀ, G.; CANZIAN, F. – A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. **Pharmacogenet Genomics**, **15**(8): 535-46, 2005.

- LE MARCHAND, L.; HANKIN, J.H.; PIERCE, L.M.; SINHA, R.; NERURKAR, P.V.; FRANKE, A.A.; WILKENS, L.R.; KOLONEL, L.N.; DONLON, T. SEIFRIED, A.; CUSTER, L.J.; LUM-JONES, A.; CHANG, W. – Well-done red meat, metabolic phenotypes and colorectal cancer in Hawaii. **Mutat Res**, **506-507**: 205-14, 2002.
- LEE, S.; MOON, H.Y.; KWAK, J.M.; KIM, J.; MIN, B.W.; UM, J.W.; KIM, S.H. – Relationship between meat and cereal consumption and colorectal cancer in Korea and Japan. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, **23**: 138-40, 2008.
- LILLA, C.; VERLA-TEBIT, E.; RISCH, A.; JÄGER, B.; HOFFMEISTER, M.; BRENNER, H.; CHANG-CLAUDE, J. – Effect of NAT1 and NAT2 Genetic polymorphisms on Colorectal Cancer Risk Associate with Exposure to Tobacco Smoke and Meat Consumption. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **15**(1): 99-107, 2006.
- LITTLE, J.; SHARP, L.; MASSON, L.F.; BROCKTON, N.T.; COTTON, S.C.; HAITES, N.E.; CASSIDY, J. – Colorectal cancer and genetic polymorphisms of *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1*: a case-control study in the Grampian region of Scotland. **Int J Cancer**, **119**(9): 2155-64, 2006.
- LOKTIONOV, A.; WATSON, M.A.; GUNTER, M.; STEBBINGS, W.S.L.; SPEAKMAN, C.T.M.; BINGHAM, S.A. – Glutathione-S-transferase gene polymorphisms in colorectal cancer patients: interaction between *GSTM1* and *GSTM3* allele variants as a risk-modulating factor. **Carcinogenesis**, **22**(7): 1053-60, 2001.
- MAHID, S.S.; COLLIVER, D.W.; CRAWFORD, N.P.S.; MARTINI, B.D.; DOLL, M.A.; HEIN, D.W.; COBBS, G.A.; PETRAS, R.E.; GALANDIUK, S. – Characterization of N-acetyltransferase 1 and 2 polymorphisms and haplotype analysis for inflammatory bowel disease and sporadic colorectal carcinoma. **BMC Med Genet**, **8**: 28, 2007.
- MC CULLOUGH, M.L.; ROBERTSON, A.S.; CHAO, A.; JACOBS, E.J.; STAMPFER, M.J.; JACOBS, D.R.; DIVER, W.R.; CALLE, E.E.; THUN, M.J. – A prospective study of whole grains, fruits, vegetables and colon cancer risk. **Cancer Causes Control**, **14**(10): 959-70, 2003.
- MELHAM, M.F.; NEISLER, A I.; FINLEY, G.G. – Distribution of cells expressing mycproteins in human colorectal epithelium, polyps, and malignant tumors. **Cancer Res**, **52**: 5853-5864, 1992.
- MICHELS, K.B.; GIOVANNUCCI, E.; JOSHIPURA, K.J.; ROSNER, B.A.; STAMPFER, M.J.; FUCHS, C.S.; COLDITZ, G.A.; SPEIZER, F.E.; WILLETT, W.C. – Prospective Study of Fruit Vegetable Consumption and Incidence of Colon and Rectal Cancers. **J Natl Cancer Inst**, **92**(21): 1740-52, 2000.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL . Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Coordenação de Orientação Alimentar. **Manual da Pirâmide dos Alimentos**. 1997. Brasília.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativas para incidência e mortalidade por câncer 2004** Rio de Janeiro, 2003. Disponível em <<http://www.inca.gov.br>> Acesso em 27 dez. 2005.

- MIZOUE, T.; TANAKA, K.; TSUJI, I.; WAKAI, K.; NAGATA, C.; OTANI, T.; INOUE, M.; TSUGANE, S. – Alcohol Drinking and Colorectal Cancer Risk: an Evaluation Based on a Systematic Review of Epidemiologic Evidence among the Japanese Population. **Jpn J Clin Oncol**, **36**(9):582-97, 2006.
- MOSKAL, A.; NORAT, T.; FERRARI, P.; RIBOLI, E. – Alcohol intake and colorectal cancer risk: a dose-response meta-analysis of published cohort studies. **Int J Cancer**, **120**(3): 664-71, 2007.
- MURTAUGH, M.A.; SWEENEY, C.; MA, K.N.; CAAN, B.J.; SLATTERY, M.L. – The CYP1A1 Genotype May Alter the Association of Meat Consumption Patterns and Preparation with the Risk of Colorectal Cancer in Men and Women. **J Nutr**, **135**(2): 179-86, 2005.
- NAMBA, H., MATSUO, K.; FAGIN, J. A. Clonal composition of benign and malignant thyroid tumors. **J Clin Invest**, **86**(1): 120-5, 1990.
- NORAT, T.; BINGHAM, S.; FERRARI, P.; SLIMANI, N.; JENAB, M.; MAZUIR, M.; OVERVAD, K.; OLSEN, A.; TJØNNELAND, A.; CLAVEL, F.; BOUTRON-ROUULT, M.C.; KESSE, E.; BOEING, H.; BERGMANN, M.M.; NIETERS, A.; LINSEISEN, J.; TRICHOPOULOU, A.; TRICHOPOULOS, D.; TOUNTAS, Y.; BERRINO, F.; PALLI, D.; PANICO, S.; TUMINO, R.; VINEIS, P.; BUENO-DE-MESQUITA, H.B.; PEETERS, P.H.; ENGESET, D.; LUND, E.; SKEIE, G.; ARDANAZ, E.; GONZÁLEZ, C.; NAVARRO, C.; QUIRÓS, J.R.; SANCHEZ, M.J.; BERGLUND, G.; MATTISSON, I.; HALLMANS, G.; PALMQVIST, R.; DAY, N.E.; KHAW, K.T.; KEY, T.J.; SAN JOAQUIN, M.; HÉMON, B.; SARACCI, R.; KAAKS, R.; RIBOLI, E. – Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. **J Natl Cancer Inst**, **97**(12): 906-16, 2005.
- PARKIN, D.M.; WHELAN, S.L.; FERLAY, J.; TEPPA, L.; THOMAS, D.B. – Cancer incidence in five continents. **IARC Sci Publ**, **155**(3): 2002.
- PELTOMAKI, P.; AALTONEN, L.A.; SISTONEN, P.; PYLKKANEN, L.; MECKLIN, J.P.; JARVINEN, H.; GREEN, J.S.; JASS, J.R.; WEBER, J.L.; LACH, F.S. – Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. **Science**, **260**: 810-2, 1993.
- PETERS, R.K.; GARABRANT, D.H.; YU, M.C.; MACK, T.M. – A case-control study of occupational and dietary factors in colorectal cancer in young men by subsite. **Cancer Res**, **49**: 5459-68, 1989.
- PICKLE, L.W.; HAO, Y.; JEMAL, A.; ZOU, Z.; TIWARI, R.C.; WARD, E.; HACHEY, M.; HOWE, H.L.; FEUER, E.J. – A new method of estimating United States and state-level cancer incidence counts for the current calendar year. **CA Cancer J Clin**, **57**(1): 30-42, 2007.
- PINHO, M. & ROSSI, B.M. – Câncer colorectal: modelo ideal para a compreensão da carcinogênese. In: Rossi, B.M. & Pinho, P. – **Genética e Biologia Molecular para o Câncer**. São Paulo, Lemar, 1999. p.143-172.
- RESZKA, E.; WASOWICZ, W.; GROMADZINSKA, J. – Genetic polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes, diet and cancer susceptibility. **Br J Nutr**, **96**(4): 609-19, 2006.

- RODRIGO, L. & RIESTRA, S. – Diet and colon cancer. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, **99**(3): 183-9, 2007.
- ROSSI, B.M.; NAKAGAWA, T.W.; FERREIRA, O.F.; AGUIAR, S.; LOPES, A. – Epidemiologia e Fatores de Risco em Câncer Colorretal. In : Rossi, B.M.; Nakagawa, T.W.; Ferreira, O.F.; Aguiar, S.; Lopes, A. – **Câncer de Cólon, Reto e Ânus**. São Paulo, Lemar, 2004. p. 03-21
- RYAN-HARSHMAN, M.; ALDOORI, W. – Diet and colorectal cancer: Review of the evidence. **Can Fam Physician**, **53**(11):1913-20, 2007.
- SACHSE, C.; SMITH, G.; WILKIE, M.J.V.; BARRET, J.H.; WAXMAN, R.; SULLIVAN, F.; FORMAN, D.; BISHOP, D.T.; WOLF, C.R.; Colorectal Cancer Study Group. – A pharmacogenetic study to investigate the role of dietary carcinogens in the etiology of colorectal cancer. **Carcinogenesis**, **23**(11): 1839-49, 2002.
- SALVO, V.L.M.A. & GIMENO, S.G.A. – Reprodutibilidade e validade do questionário de freqüência de consumo de alimentos. **Revista Saúde Pública**, **36**(4): 505-12, 2002.
- SANZ, M.J.; LLORA, T.S.; PURON, M.E.C.; HERNANDES, D.M.; NAVARRO, A.G.; ROJAS, V.D. – Influence of the diet on the development of colorectal cancer in population of Madrid. **Rev Clin Esp**, **204**(7): 355-91, 2004.
- SATIA-ABOUTA, J.; GALANKO, J.A.; MARTIN, C.F.; AMMERMAN, A.; SANDLER, R.S. – Food groups and colon cancer risk in African-Americans and Caucasians. **Int J Cancer**, **109**(5): 728-36, 2004.
- SCHNEIDER, M.; NORMAN, R.; STEYN, N; BRADSHAW, D.; South African Comparative Risk Assessment Collaborating Group – Estimating the burden of disease attributable to low fruit and vegetable intake in South Africa in 2000. **S Afr Med J**, **97**(8 Pt 2): 717-23, 2007.
- SCHOTTENFELD, D. – Epidemiology. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 11-24.
- SEER Database: Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov) SEER* Start Database: Incidence – SEER 9 Regs Public – Use, Nov 2002 Sub (1973-2000), National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch, released April 2003, based on the November 2002 submission.
- SEGAL, I.; EDWARDS, C.A.; WALKER, A.R.P. – Continuing low colon cancer incidence in African populations. **Am J Gastroenterol**, **95**(4): 859-60, 2000.
- SHIKE, M. – Dietary Factors. In: Cohen, A.M.; Winawer, S.J.; Friedman, M.A.; Gunderson, L.L. – **Cancer of the Colon, Rectum, and Anus**. New York, McGraw-Hill, 1995. p. 5-40.

- SIDRANSKY, D.; TOKINO, T.; HAMILTON, S.R.; KINZLER, K.W.; LEVIN, B.; FROST, P.; VOGELSTEIN, B. – Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. **Science**, **256**(5053): 102-5, 1992.
- SLATTERY, M.L.; POTTER, J.D.; SAMOWTIZ, W.; BIGLER, J.; CAAN, B.; LEPPERT, M. – NAT2, GSTM-1, cigarette smoking, and risk of colon cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **7**(12): 1079-84, 1998.
- SLATTERY, M.L.; SAMOWTIZ, W.; MA, K.; MURTAUGH, M.; SWEENEY, C.; LEVIN, TR.; NEUHAUSEN, S. – CYP1A1, cigarette smoking, and colon and rectal cancer. **Am J Epidemiol**, **160**(9): 842-52, 2004.
- SIVARAMAN, L.; LEATHAM, M.P.; YEE, J.; WILKENS, L.R.; LAU, A.F.; LE MARCHAND, L. – CYP1A1 genetic polymorphisms and in situ colorectal cancer. **Cancer Res**, **54**(14): 3692-5, 1994.
- SMITH, G.; STANLEY, L.A.; SIM, E.; STRANGE, R.C.; WOLF, C.R. – Metabolic polymorphisms and cancer susceptibility. **Cancer Surv.**, **25**: 27-65, 1995.
- STEFANO, L.; FEDERICA, G.; VICTOR, M.; LYDIE, G.B.; FEDERICO, C. – A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. **Pharmacogenetics and Genomics** **15**(8): 535-46, 2005.
- TERRY, P.; HU, F.B.; HANSEN, H.; WOLK, A. – Prospective Study of Major Dietary Patterns and Colorectal Cancer Risk in Women. **Am J Epidemiol**, **154**(12): 1143-9, 2001.
- TIEMERSMA, E.W.; KAMPMAN, E.; BUENO DE MESQUITA, H.B.; BUNSCHOTEN, A.; VAN SCHOTHORST, E.M.; KOK, F.J.; KROMHOUT, D. – Meat Consumption, cigarette smoking, and genetic susceptibility in the etiology of colorectal cancer: results from a Dutch prospective study. **Cancer Causes Control**, **13**(4): 383-93, 2002.
- TSONG, W.H.; KOH, W.P.; YUAN, J.M.; WANG, R.; SUN, C.L.; YU, M.C. – Cigarettes and alcohol in relation to colorectal cancer: the Singapore Chinese Health Study. **Br J Cancer**, **96**(5): 821-7, 2007.
- TURNER, F.; SMITH, G.; SACHSE, C.; LIGHTFOOT, T.; GARNER, R.C.; WOLF, C.R.; FORMAN, D.; BISHOP, D.T.; BARRETT, J.H. – Vegetable, fruit and meat consumption and potential risk modifying genes in relation to colorectal cancer. **Int J Cancer**, **112**(2): 259-64, 2004.
- VAN DER HEL, O. L.; BUENO DE MESQUITA, H.B.; ROEST, M.; SLOTHOUBER, B.; VAN GILS, C.; VAN NOORD, P.A.H.; GROBEE, D.E.; PEETERS, P.H.M. – No modifying effect of NAT1, GSTM1, and GSTT1 on the relation between smoking and colorectal cancer risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **12**(7): 681-2, 2003.
- VOGELSTEIN, B.; FEARON, E.R.; KERN, S.E.; HAMILTON, S.R.; PREISINGER, A.C.; NAKAMURA, Y.; WHITE, R. – Allelotype of colorectal carcinomas. **Science**, **244**: 207-211, 1989.

- VOORRIPS, L.E.; GOLDBOEHM, R.A.; VAN POPPEL, G.; STURMANS, F.; HERMUS, R.J.; VAN DEN BRANDT, P.A. – Vegetable and fruit consumption and risks of colon and rectal cancer in a prospective cohort study: The Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. **Am J Epidemiol**, **152**(11):1081-92, 2000.
- WARD, L. S. – Genética molecular do câncer: implicações no câncer de tiróide. **Rev Bras Ci Terap**, **23**(6): 212-218, 1997.
- WAYER, J. – Evolução do câncer do cólon. In: Habr-Gama, A; Gama-Rodrigues, J.J.; Betarello, A – **Câncer do Estômago e do Intestino Grosso: Prevenção e Detecção**. São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária Ltda. 1980. p. 73-76.
- WILLET, W. – **Nutritional Epidemiology**. New York, Oxford, 1990. p.69-71.
- WINAWER, S.J.; ENKER, W.E.; LIGHTDALE, C.J. – Malignant tumors of the colon and rectum. In: Berk, J.E. – **Gastroenterology**. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1985, p. 2531-2574.
- WINAWER, S.J. & SHERLOCK, P. – Malignant neoplasms of the small and large intestine. In: Sleisenger, M.H. & Fordtran, J.S. – **Gastrointestinal Disease**. Philadelphia, W.B. Sanders Company, 1983, p. 1220-1249.
- WOODHEAD, J.L.; FALLON, R.; FIGUERED, H.; LONGDALE, J.; MALCOM, A.D. – **Alternative Methodology of Gene Diagnosis in Human Genetic Diseases – A Practical Approach**. Oxford: IRL Press, K.E. Davies (ed.), 1986, p. 51-64.
- YE, Z.; PARRY, J.M. – Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase M1 and T1, and susceptibility to colon cancer. **Teratog Carcinog Mutagen**, **22**(5): 385-92, 2002.
- YEH, C.C.; HSIEH, L.L.; TANG, R.; CHANG-CHIEH, C.R.; SUNG, F.C. – Vegetable/fruit, smoking, glutathione S-transferase polymorphisms and risk for colorectal cancer in Taiwan. **World J Gastroenterol**, **11**(10): 1473-80, 2005.
- YEH, C.C.; SUNG, F.C.; TANG, R.; CHANG-CHIEH, C.R.; HSIEH, L.L. – Association between polymorphisms of biotransformation and DNA-repair genes and risk of colorectal cancer in Taiwan. **J Biomed Sci**, **14**(2): 183-93, 2007.
- YOSHIOKA, M.; KATOH, T.; NAKANO, M.; TAKASAWA, S.; NAGATA, N.; ITOH, H. – Glutathione S-transferase (GST) M1, T1, P1, N-acetyltransferase (NAT) 1 and 2 genetic polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer. **Sanyo Ika Daigaku Zasshi**, **21**: 133-147, 1999.
- ZHANG, Y.; SHI, Z.; DENG, C.; ZHU, Y.; ZHOU, Y. – The research the relationship between N-acetyltransferase 1 gene polymorphism and genetic susceptibility to sporadic colorectal adenocarcinoma. **Zhonghua Nei Ke Za Zhi**, **41**(11): 746-749, 2002.
- ZHONG, S.; WYLLIE, A.H.; BARNES, D.; WOLF, C.R.; SPURR, N.K. – Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast, and colon cancer. **Carcinogenesis**, **14**(9): 1821-1824, 1993.

ANEXOS

**Recordatório de frequência alimentar e ingestão de bebidas alcoólicas e hábito de fumar
a ser aplicado aos pacientes e controles participantes do estudo “Caracterização dos
aspectos dietéticos dos pacientes com Câncer Colorretal esporádico”**

1) Fatores Predisponentes

A) Frequência no almoço

Dobra a quantidade da porção (repetição)

Carne vermelha:	S ()	N ()
Carne ave:	S ()	N ()
Carne peixe:	S ()	N ()
Carne porco:	S ()	N ()
Embutidos:	S ()	N ()

B) Frequência no jantar

Carne vermelha:	S ()	N ()
Carne ave:	S ()	N ()
Carne peixe:	S ()	N ()
Carne porco:	S ()	N ()
Embutidos:	S ()	N ()

C) Frequência diária

Frios:

2) Fatores Protetores

A) Freqüência no almoço

Dobra a quantidade da porção

Folhas cruas:	S (...)	N (....)
Folhas cozidas:	S (....)	N (....)
Legumes crus:	S (...)	N (...)
Legumes cozidos:	S (...)	N (...)
Cereais integrais:	S (...)	N (...)
Feijões:	S (...)	N (...)

B) Freqüência no jantar

Folhas cruas:	S (...)	N (...)
Folhas cozidas:	S (...)	N (...)
Legumes crus:	S (...)	N (...)
Legumes cozidos:	S (...)	N (...)
Cereais integrais:	S (...)	N (...)
Feijões:	S (...)	N (...)

C) Freqüência diária

Frutas:

3) Ingestão bebidas alcoólicas

Freqüência:

Tipo de bebida:

Tempo de ingestão:

4) Tabagismo

Nunca fumou: S (...) N (...)

Ex-tabagista: S (...) N (...) Há quanto tempo:.....

Tabagista: S (...) N (...) Tempo de tabagismo:.....

Número de cigarros:.....

Termo de consentimento livre e esclarecido a ser obtido dos pacientes, para participação no estudo intitulado “Identificação dos polimorfismos T6235C e A488G, do gene *CYP1A*, e NAT1*4 e NAT1*10, do gene *NAT1*, associados com o metabolismo de carcinógenos na Susceptibilidade ao Adenocarcinoma Colorretal Esporádico”

Nome:

RG: **Idade:** anos

Endereço residencial:

.....

Endereço comercial:

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei informações sobre o funcionamento do meu intestino e sobre a ocorrência de câncer do intestino ou do reto em meus familiares e uma amostra de sangue a ser colhida em veia de um dos braços (volume: 10 ml). Sei que posso sentir dor de pequena intensidade e pequena duração no local da punção da veia. Estou ciente que este material será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer do intestino e do reto. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização deste exame. 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. Sei que essa é uma área que está em grande evolução, portanto, caso eu permita, o material restante poderá ser utilizado para outros 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. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar a Dra. Carmen Silvia Passos Lima no Oncocentro – UNICAMP. Tel: 3521 7496 e 3521 9219. Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do

estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP. Tel: 3521 7232.

Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.

Guardar Material: SIM () NÃO ()

.....
Assinatura do paciente

.....
Assinatura do responsável legal

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas, / /

Termo de consentimento livre e esclarecido a ser obtido dos indivíduos controle, para participação no estudo intitulado “Identificação dos polimorfismos T6235C e A488G, do gene *CYP1A*, e NAT1*4 e NAT1*10, do gene *NAT1*, associados com o metabolismo de carcinógenos na Susceptibilidade ao Adenocarcinoma Colorretal Esporádico”

Nome:

RG: **Idade:** anos

Endereço residencial:

.....

Endereço comercial:

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei informações sobre o funcionamento do meu intestino e sobre a ocorrência de câncer do intestino ou do reto em meus familiares e uma amostra de sangue a ser colhida em veia de um dos braços (volume: 10 ml). Sei que posso sentir dor de pequena intensidade e pequena duração no local da punção da veia. Estou ciente que este material será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer do intestino e do reto. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização deste exame. 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. Sei que essa é uma área que está em grande evolução, portanto, caso eu permita, o material restante poderá ser utilizado para outros 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. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar a Dra. Carmen Silvia Passos Lima no Oncocentro – UNICAMP. Tel: 3521 7496 e 3521 9219. Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP. Tel: 3521 7232.

Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.

Guardar Material: SIM () NÃO ()

.....
Assinatura do paciente

.....
Assinatura do responsável legal

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas, / /



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-7187

CEP, 01/09/03.
(Grupo I)

PARECER PROJETO: Nº 227/2003

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “IDENTIFICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DOS GENES CYP1A1, NAT1 E NAT2, ASSOCIADOS AO METABOLISMO DE CARCINÓGENOS NA SUSCEPTIBILIDADE AO ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO”
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Sandro Nunes Angelo
INSTITUIÇÃO: Disciplina de Coloproctologia/Depto. de Cirurgia/FCM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 29/05/2003
APRESENTAR RELATÓRIO EM: 19/02/04 e 19/08/04

II - OBJETIVOS

Determinar as frequências de ocorrência dos polimorfismos Ile462Val e T6325C do gene CYP1A1, NAT1*10 do gene NAT1 e F1 do gene NAT2, em cada grupo de indivíduos. Verificar se os polimorfismos gênicos influenciam o risco de ocorrência do CC e, verificar se os polimorfismos gênicos estão associados a idade, ao sexo, a raça, ao hábito de fumar e a localização, ao estágio e ao grau de diferenciação do tumor de pacientes com CC.

III - SUMÁRIO

Serão avaliados 100 pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico (ACE), ao diagnóstico, independente do sexo, atendidos no Ambulatório de Proctologia do HC/UNICAMP. O recrutamento ocorrerá no período pré-operatório e cada paciente será avaliado do ponto de vista clínico e laboratorial. Será também estudado um grupo controle, constituído por doadores de sangue atendidos no Hemocentro/UNICAMP, com idade entre 50 e 60 anos, que não refiram perda de peso, sintomas gastrointestinais ou antecedente familiar de CC, e que não refiram doenças consideradas pré-neoplásicas e doenças inflamatórias intestinais. Será realizada avaliação clínica e laboratorial e molecular dos pacientes.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O desenvolvimento do câncer colorretal está relacionado a uma série de fatores, externos e internos. Entre estes últimos citam-se as alterações gênicas, algumas já bem estabelecidas (como a mutação do gene APC), e outras ainda em questionamento. O objetivo do trabalho será avaliar a ocorrência de polimorfismos de três genes (CYP1A1, NAT1 e NAT2) em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e compará-los com controles (pacientes sem cancer colorretal ou historia familiar).

Entendemos que se trata de um trabalho relevante com o intuito de identificação de grupos de risco para adenocarcinoma colorretal e que merece aprovação. Em carta de esclarecimento enviada pelo pesquisador responsável houve resposta das questões levantadas. Com isso, recomendamos a aprovação.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

continuação

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na VIII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 19 de agosto de 2003.

Profa. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER N.º 1544/2003

Registro CONEP: 9078 (Este n.º deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Registro CEP: 22703

Processo n.º 25000.092353/2003-18

Projeto de Pesquisa: "Identificação dos Polimorfismos dos Genes CYP1A1, NAT1 e NAT2, Associados com Metabolismo de Carcinógenos, na Susceptibilidade ao Adenocarcinoma Colorretal Esporádico"

Pesquisador Responsável: Dr. Sandro Nunes Angelo

Instituição: Hospital das Clínicas - UNICAMP.

Área Temática Especial: Genética humana.

Objetivos

Determinar as frequências de ocorrências dos polimorfismos Ile462Val e T6325C do gene CYP1A1, NAT1*10 do gene NAT 2, em cada grupo de indivíduos. Verificar se os polimorfismos gênicos influenciam o risco de ocorrência do CC. Verificar se os polimorfismos gênicos estão associados a idade, ao sexo, a raça, ao hábito de fumar e a localização, ao estadio e ao grau de diferenciação do tumor de pacientes com CC.

Sumário

Com a intenção de atingir aos objetivos traçados os pesquisadores estudarão cerca de 100 pacientes provenientes do Ambulatório de Proctologia do HC/UNICAMP com diagnóstico de adenocarcinoma colorretal " esporádico" (ACE), independente do sexo. Cada paciente será avaliado do ponto de vista clínico e laboratorial. Um grupo controle composto de doadores de sangue com idade entre 50 e 60 anos que não tenham doenças pré-neoplásicas, perda de peso, sintomas gastro-intestinais ou antecedentes com câncer colorretal, recrutadas junto ao Hemocentro/UNICAMP. O câncer colorretal tem relação com uma série de fatores externos e internos. As alterações gênicas pertencem aos fatores internos. Algumas alterações já estão estabelecidas (como a mutação do gene APC), outras ainda são questionadas. Será avaliada a ocorrência de polimorfismos de três genes (CYP1A1, NAT1 e NAT2) em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e comparado com o grupo controle. Estudo com manipulação genética para diagnóstico.

Considerações:

1. Consta do protocolo, na forma de anexos I e II, Carta de Consentimento pós - informado a ser obtida dos pacientes e outra a ser obtida do indivíduo controle. Essas Cartas devem ter seu título substituído por Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE, nomenclatura recomendada pela Resolução CNS nº 196/96.
2. Há referência no TCLE e no Protocolo de que o material biológico obtido será utilizado somente nesta pesquisa e que para qualquer outro uso do mesmo material, um novo projeto de pesquisa será encaminhado ao CEP. Ressalta-se que, para projetos que incluam o armazenamento de material, deve ser incluído no protocolo:
 - a- justificativa da necessidade de usos futuros;
 - b- declaração de que toda nova pesquisa a ser feita com o material será submetida para aprovação ao CEP da instituição e CONEP, conforme as normas, em caso de área temática especial;



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

Cont. Parecer CONEP nº 1544/03.

c- incluir consentimento prévio dos doadores para guarda de material para pesquisas futuras;

Em caso de impossibilidade de obtenção do consentimento específico para nova pesquisa (doador já falecido, tentativa de contato sem sucesso, etc...), devem ser apresentadas as justificativas (como parte do protocolo) para apreciação do CEP, que dispensará ou não o consentimento individual.

A instituição deve criar norma interna para armazenamento de materiais biológicos, com definição dos responsáveis pela guarda e uso do material e de possíveis usuários, com mecanismos que garantam sigilo e respeito à confidencialidade (codificação) além de mecanismos pelos quais os doadores possam ser contactados, tendo em vista novo consentimento específico para cada nova pesquisa ou entrega de informação de interesse do doador (por ex. resultado de exames futuros), permitindo que os doadores possam receber eventuais benefícios provenientes dos estudos com seu material biológico.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto com a seguinte recomendação a ser acompanhada pelo CEP.

- Atendimento às considerações acima.

Situação : Projeto aprovado com recomendação.

Brasília, 18 de Setembro de 2003.

WILLIAM SAAD HOSSNE
Coordenador da CONEP/CNS/MS

ANEXO 6

Distribuição dos pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com a idade, o sexo, a raça, os níveis de antígeno cárcino-embrionário (CEA), a localização do tumor, o grau de diferenciação e o estadiamento TNM

Caso	Paciente	Idade ao diagnóstico	Sexo	Raça	Localização do tumor	Grau de diferenciação do Adenocarcinoma	Estadiamento TNM
1	M.D.D.S.	57	F	C	D	Moderadamente	II
2	S.A.D.S.F.	44	F	C	D	Moderadamente	IV
3	A.M.B.	71	F	C	D	Moderadamente	ND
4	J.S.C.	57	M	C	D	Moderadamente	II
5	A.G.B.	74	M	C	D	Moderadamente	III
6	M.A.A.B.	72	M	C	D	Bem	I
7	I.J.S.	76	M	C	D	Moderadamente	II
8	L.T.F.	50	M	C	D	Moderadamente	II
9	A.F.S.	54	F	N	D	Moderadamente	II
10	M.L.P.F.	50	F	C	D	Moderadamente	III
11	P.P.	67	M	C	D	Moderadamente	II
12	J.A.G.	59	M	C	D	Bem	NR
13	A.G.S.	55	F	C	D	Bem	I
14	M.R.	75	M	C	D	Moderadamente	I
15	M.C.S.	59	F	C	D	Moderadamente	IV
16	H.M.	63	M	C	D	Moderadamente	II
17	H.S.	63	M	C	D	Moderadamente	IV
18	M.A.C.J.	54	F	N	D	Moderadamente	I
19	M.T.	74	F	C	P	Moderadamente	III
20	P.B.	55	M	C	P	Bem	III
21	M.C.G.	61	M	C	D	Moderadamente	I
22	F.P.	81	M	C	P	Bem	III
23	A.V.S.	60	F	N	D	Moderadamente	NR
24	D.P.F.G.	66	F	N	P	Bem	II
25	L.S.	58	M	C	D	Moderadamente	I
26	G.C.S.	50	M	N	D	Moderadamente	III

ANEXO 6

continuação

27	J.J.L.	59	M	N	D	Moderadamente	II
28	J.E.G.	63	M	C	P	Pouco	II
29	M.A.L.S.	76	F	C	D	Moderadamente	II
30	A.F.S.	41	M	C	P	Moderadamente	I
31	A.F.S.	75	F	N	D	Moderadamente	III
32	M.H.S.	75	F	C	D	Moderadamente	I
33	J.P.R.	73	M	C	D	Bem	I
34	A.C.S.	76	M	C	D	Bem	III
35	A.A.	64	M	C	D	Moderadamente	II
36	I.A.T.	74	M	C	D	Moderadamente	III
37	A.F.	56	M	C	D	Moderadamente	III
38	A.F.	71	M	C	P	Moderadamente	III
39	J.J.C.	70	M	C	P	Moderadamente	III
40	L.P.S.	41	F	N	D	Moderadamente	III
41	J.Z.F.	75	F	C	P	Moderadamente	IV
42	M.M.F.A.	72	F	N	D	Moderadamente	II
43	O.I.D.A.	73	M	C	D	Moderadamente	II
44	R.J.C.G.	47	M	C	D	Bem	II
45	H.B.M.	68	F	C	D	Moderadamente	III
46	C.R.O.	47	F	C	NR	NR	NR
47	D.M.C.	51	F	C	P	Moderadamente	II
48	A.M.O.	80	M	N	D	Bem	I
49	D.B.F.	87	F	C	P	Moderadamente	III
50	N.P.R.	64	F	C	D	Moderadamente	NR
51	E.F.B.S.	49	F	N	D	Moderadamente	II
52	M.O.O.	55	F	C	D	Moderadamente	III
53	A.M.R.	73	M	A	P	Bem	IV
54	E.P.	35	M	C	D	Moderadamente	IV
55	C.R.	75	M	C	D	Bem	I
56	B.M.	63	F	N	P	Bem	III
57	R.S.	55	M	C	D	Moderadamente	III

continuação

58	M.L.C.B.	31	F	N	D	Moderadamente	I
59	I.T.L.	76	F	C	D	Moderadamente	I
60	J.M.S.	64	F	C	D	Pouco	IV
61	J.P.S.	73	M	C	P	Moderadamente	III
62	G.M.S.	65	F	C	D	Moderadamente	III
63	J.C.C.	49	M	C	D	Moderadamente	III
64	L.R.R.	63	F	N	D	Moderadamente	I
65	N.M.M.S.	59	F	N	D	Moderadamente	IV
66	C.N.B.	51	F	C	NR	NR	NR
67	E.P.S.	61	F	C	D	Bem	III
68	O.A.C.	50	M	N	D	Moderadamente	III
69	T.T.S.	51	F	C	D	Moderadamente	IV
70	M.P.S.M.	56	F	C	D	Moderadamente	III
71	A.M.M.	59	M	C	P	Bem	II
72	J.M.	66	M	C	D	Bem	I
73	V.L.	54	M	N	D	Moderadamente	IV
74	M.M.S.	58	F	C	P	Bem	III
75	J.M.S.	85	M	C	D	Bem	III
76	M.F.M.N.	35	M	C	P	Moderadamente	II
77	A.G.	64	M	C	D	Moderadamente	I
78	O.O.	70	M	C	P	Bem	III
79	A.Z.	77	M	C	D	Moderadamente	II
80	L.T.	72	M	C	D	Moderadamente	III
81	P.L.	42	M	C	P	Bem	II
82	B.F.F.	59	M	N	D	Bem	III
83	W.J.T.	43	M	C	D	Moderadamente	III
84	L.R.P.F.	55	M	C	P	Moderadamente	II
85	M.R.F.	60	F	C	D	Moderadamente	III
86	M.R.B.	72	F	C	D	Moderadamente	II
87	O.C.B.	59	M	C	D	Moderadamente	III
88	J.J.S.	41	M	C	D	Moderadamente	I

ANEXO 6

continuação

89	A.C.F.	69	M	C	D	NR	NR
90	E.P.O.	60	F	N	D	Moderadamente	I
91	V.R.A.	78	F	N	D	Moderadamente	II
92	O.G.F.	80	M	C	D	Moderadamente	III
93	J.D.P.A.	64	M	C	D	Moderadamente	I
94	F.S.	77	M	C	D	Moderadamente	II
95	C.R.K.P.	54	M	C	NR	NR	NR
96	P.F.	80	M	C	NR	NR	NR
97	T.A.F.S.	58	F	C	D	Moderadamente	III
98	M.J.	76	F	C	D	Moderadamente	IV
99	A.F.	74	M	C	P	Moderadamente	II
100	L.P.	60	M	C	P	Moderadamente	IV
101	M.A.M.	27	M	C	NR	NR	NR
102	C.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
103	D.V.	45	M	C	P	Moderadamente	I
104	C.S.	52	M	C	P	Moderadamente	III
105	V.F.B.	45	M	C	P	Moderadamente	III
106	J.P.R.	54	M	C	D	Moderadamente	III
107	J.M.T.	56	M	C	D	Bem	I
108	C.L.S.	42	M	C	D	Moderadamente	ND
109	J.J.F.	71	M	C	D	Moderadamente	III
110	M.L.R.	48	F	N	D	Moderadamente	ND
111	J.A.O.	77	M	C	D	Bem	I
112	M.C.T.S.	62	F	C	D	Moderadamente	ND
113	S.F.G.	77	F	N	P+D	Moderadamente	III
114	I.M.M.	65	F	C	D	Bem	II
115	T.H.Y.	41	F	A	D	Moderadamente	III
116	J.F.S.	51	M	C	D	Moderadamente	III
117	M.S.B.	48	F	C	P	Pouco	III
118	M.P.	49	M	C	D	Bem	III
119	G.C.C.S.	62	F	C	D	Moderadamente	III

continuação

120	A.F.P.	73	F	C	P	Moderadamente	III
121	C.L.G.	54	F	C	P	Moderadamente	II
122	M.L.L.	78	F	C	D	Moderadamente	III
123	A.Z.S.	66	M	C	D	Moderadamente	II
124	O.D.	56	M	C	P	Moderadamente	III
125	H.H.C.	45	F	N	D	Moderadamente	ND
126	M.A.V.R.	70	F	N	D	Moderadamente	III
127	A.C.S.S.	46	M	C	P	Moderadamente	II
128	D.G.	73	M	C	D	Moderadamente	II
129	G.S.D.	52	M	C	D	Moderadamente	II
130	G.P.M.	49	M	C	NR	NR	NR
131	R.P.G.	72	F	C	D	Moderadamente	III
132	N.A.F.	55	M	C	D	Moderadamente	II
133	P.T.J.	50	M	C	D	Bem	I
134	S.J.S.	69	M	C	D	Moderadamente	III
135	P.C.A.F.	60	M	C	D	Moderadamente	ND
136	M.J.S.	59	F	C	P	Bem	II
137	R.Z.G.	72	F	C	P	Moderadamente	II
138	P.V.C.	48	M	C	D	Moderadamente	II
139	N.M.L.S.	46	F	N	D	Moderadamente	ND
140	M.C.C.T.R.	62	F	C	D	Moderadamente	II
141	W.W.O.	75	M	C	D	Moderadamente	ND
142	J.R.P.F.	55	M	N	P	Moderadamente	III
143	B.J.B.	65	M	C	D	Moderadamente	ND
144	A.B.F.	60	F	C	D	Moderadamente	I
145	N.S.S.	62	F	C	P	Pouco	IV
146	J.E.N.	56	M	C	D	Moderadamente	III
147	Z.P.S.	80	M	C	D	Moderadamente	I
148	J.L.S.	45	M	C	D	Moderadamente	III
149	S.C.	54	M	C	P	Moderadamente	III
150	A.M.O.	72	M	C	D	Moderadamente	III
151	A.C.A.	50	F	C	D	Moderadamente	II

continuação

152	N.C.A.	74	F	C	P	Moderadamente	III
153	L.C.T.	49	M	C	D	Moderadamente	ND
154	B.L.	53	M	C	D	Moderadamente	II
155	A.P.S.	57	F	C	D	Moderadamente	II
156	G.B.B.	65	F	C	D	Moderadamente	I
157	A.L.P.	29	F	C	D	Moderadamente	IV
158	A.S.S.	65	M	C	D	Moderadamente	II
159	R.N.L.J.	35	M	C	P	Bem	III
160	M.C.V.	69	F	C	D	Bem	ND
161	M.R.A.	33	M	C	D	Moderadamente	II
162	M.L.Z.C.	43	F	C	D	Bem	I
163	G.M.	68	M	C	P	Moderadamente	II
164	M.A.C.S.	42	F	C	D	Moderadamente	III
165	F.P.	33	M	C	D	NR	NR
166	L.F.	61	M	C	D	Moderadamente	II
167	I.M.C.	61	F	C	D	Moderadamente	III
168	E.B.	66	M	C	D	Moderadamente	I
169	J.B.	64	M	C	D	Moderadamente	II
170	L.A.C.	52	M	C	D	Moderadamente	NR
171	M.A.A.	71	M	C	D	Moderadamente	II
172	S.A.C.G.	35	F	C	D	NR	NR
173	G.G.	75	M	N	D	Moderadamente	I
174	P.B.	56	M	C	D	Moderadamente	III
175	E.P.	54	F	C	P	Moderadamente	NR
176	T.G.L	61	F	N	P+D	Moderadamente	IV
177	O.A.V.	72	M	C	D	Bem	IV
178	F.X.F	74	M	C	D	Pouco	III
179	A.A.S	41	F	C	P	Moderadamente	IV
180	A.D	81	M	C	D	Bem	II
181	M.C.G.H	47	F	C	D	Moderadamente	II
182	M.A.T.S	76	F	C	D	Moderadamente	IV

continuação

183	E.M.F	67	F	C	D	Moderadamente	II
184	G.R.T	51	F	N	D	Moderadamente	II
185	P.B.T	80	M	C	D	Pouco	III
186	I.A.C	68	F	C	P	Bem	II
187	M.L.Q.R	46	F	C	D	Moderadamente	III
188	H.P.B	66	F	C	P+D	Moderadamente	III
189	M.J.D.Q	53	F	C	D	Moderadamente	I
190	C.O	51	M	C	D	Bem	II
191	R.A.M	33	M	C	P	Moderadamente	III
192	J.Q.C	82	M	N	D	Moderadamente	II
193	M.I.Z.M	51	F	C	D	Moderadamente	II
194	G.A.S.A	40	F	C	D	Moderadamente	III
195	H.S	59	M	C	D	Moderadamente	II
196	M.A.I.M	54	F	A	P	Bem	IV
197	S.M.J	73	M	C	D	Bem	IV
198	D.S	64	M	C	P	Pouco	IV
199	A.O.S.F	70	F	C	P	Moderadamente	II
200	J.J.S	83	M	N	D	Pouco	IV
201	J.T	73	M	C	D	Bem	I
202	V.E	59	M	C	P	Bem	IV
203	M.A.I.P.	55	F	C	D	Bem	I
204	J.S.M.	57	M	C	D	Moderadamente	III
205	M.V.	51	M	A	P	Bem	0
206	L.A.R.S.	24	F	C	D	Moderadamente	III
207	A.C.S.	62	F	C	P	NR	III
208	A.V.F.	46	M	C	P	Moderadamente	II
209	L.F.S.	70	M	C	D	Bem	II
210	O.P.	48	M	C	D	Bem	NR
211	M.V.	70	F	C	D	Bem	II
212	A.P.	45	M	C	D	Bem	III
213	O.F.	68	F	C	D	Moderadamente	III

continuação

214	V.S.C.	59	F	N	D	Moderadamente	I
215	R.S.S.	35	M	C	D	Moderadamente	IV
216	J.O.E.	74	M	C	D	Moderadamente	II
217	G.P.A.	56	F	C	D	Moderadamente	I
218	D.F.A.	50	M	C	P	Pouco	I
219	D.J.S.	55	F	C	D	Pouco	II
220	P.A.B.	75	M	C	D	Moderadamente	I
221	L.B.O.	55	M	C	D	Moderadamente	II
222	J.A.P.C.	54	F	C	D	Moderadamente	I
223	R.F.R.	27	F	C	P	Bem	II
224	M.F.C.	57	F	C	P	Moderadamente	III
225	M.M.S.S.	40	F	C	D	Moderadamente	II
226	E.S	51	F	C	D	Moderadamente	NR
227	A.C.S.	51	M	C	P	Moderadamente	II
228	G.B.M.N.	36	M	C	D	Pouco	III
229	R.N.M.C.	29	F	C	D	Moderadamente	III
230	B.A.	48	M	C	D	Moderadamente	II
231	L.B.L.	41	F	C	P	Moderadamente	III
232	E.S.F.	52	F	C	D	Pouco	II
233	C.G.S.	74	F	C	D	Moderadamente	III
234	O.C.	56	M	C	P	Moderadamente	IV
235	M.B.F.	65	F	C	D	Moderadamente	IV
236	M.F.S.	50	F	C	D	Bem	II
237	A.C.G.	60	M	C	P	Moderadamente	III
238	A.B.	71	M	C	D	Moderadamente	IV
239	A.R.G.	42	F	C	P	Pouco	III
240	J.M.F.	60	M	C	D	Moderadamente	IV
241	M.A.G.	49	M	N	P+D	Pouco	NR
242	J.C.	72	M	C	P	Moderadamente	IV
243	I.A.P.S.	41	F	C	D	Bem	NR
244	M.G.	79	M	C	P	Moderadamente	I

continuação

245	J.B.G.G.	48	M	C	P	Bem	II
246	J.G.S.	68	M	C	D	Bem	IV
247	L.R.R.	39	M	C	P	Moderadamente	II
248	O.L.	64	M	C	P	Moderadamente	IV
249	S.T.	74	M	C	D	Bem	III
250	H.S.S.J.	66	F	C	P	Moderadamente	IV
251	C.A.S.	55	M	C	D	Moderadamente	III
252	W.D.	54	M	C	D	Moderadamente	NR
253	A.C.S.M.	61	F	C	P	NR	NR
254	A.Z.	62	F	C	D	Moderadamente	III

F, feminino; M, masculino; C, caucasóide; N, negróide; A, asiática; NR, não realizado D, distal; P, proximal; P+D, proximal e distal; ND, não determinado

ANEXO 7

Distribuição dos pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com o hábito de fumar, o etilismo e o consumo mensal de carnes, verduras e leguminosas, frutas e cereais integrais

N. do caso	Paciente	Tabagismo	Etilismo	Consumo (porções/mês)			
				Carnes	Verduras e Leguminosas	Frutas	Cereais Integrais
1	M.D.D.S.	NT	NE	NR	NR	NR	NR
2	S.A.D.S.F.	T	NE	56	4	NI	NI
3	A.M.B.	ET	NE	26	NI	NI	NI
4	J.S.C.	ET	EE	NR	NR	NR	NR
5	A.G.B.	ET	EE	64	40	15	NI
6	M.A.A.B.	NT	NE	36	72	56	NI
7	I.J.S.	ET	EE	47	40	NI	NI
8	L.T.F.	ET	NE	25	16	NI	NI
9	A.F.S.	T	NE	64	104	NI	NI
10	M.L.P.F.	NT	NE	62	56	NI	NI
11	P.P.	T	NE	60	80	NI	NI
12	J.A.G.	T	NE	160	32	140	NI
13	A.G.S.	ET	NE	57	52	28	NI
14	M.R.	T	E	41	52	56	NI
15	M.C.S.	T	NE	66	56	56	NI
16	H.M.	T	NE	51	80	48	NI
17	H.S.	ET	NE	43	46	16	NI
18	M.A.C.J.	NT	NE	20	44	84	28
19	M.T.	NT	NE	28	34	84	2
20	P.B.	T	ET	86	68	14	NI
21	M.C.G.	ET	NE	72	62	28	NI
22	F.P.	ET	E	112	44	56	NI
23	A.V.S.	ET	NE	58	120	84	NI
24	D.P.F.G.	NT	NE	110	224	NI	NI
25	L.S.	ET	NE	81	104	140	NI

continuação

26	G.C.S.	T	E	180	80	14	NI
27	J.J.L.	ET	EE	134	96	56	NI
28	J.E.G.	ET	EE	124	88	56	12
29	M.A.L.S.	NT	NE	46	112	28	NI
30	A.F.S.	T	EE	81	40	NI	NI
31	A.F.S.	NT	NE	106	28	84	NI
32	M.H.S.	NT	NE	100	152	28	NI
33	J.P.R.	NT	EE	76	120	84	NI
34	A.C.S.	NT	NE	110	112	NI	NI
35	A.A.	T	EE	132	48	NI	NI
36	I.A.T.	NT	NE	120	96	56	NI
37	A.F.	NT	NE	44	104	NI	NI
38	A.F.S.	NT	NE	144	8	4	NI
39	J.J.C.	ET	NE	72	80	28	NI
40	L.P.S.	NT	NE	128	88	28	NI
41	J.Z.F.	NT	NE	32	36	NI	24
42	M.M.F.A.	NT	NE	72	88	56	NI
43	O.I.D.A.	ET	NE	60	136	NI	NI
44	R.J.C.G.	T	NE	52	112	28	NI
45	H.B.M.	NT	NE	40	16	28	NI
46	C.R.O.	T	NE	168	168	84	NI
47	D.M.C.	NT	NE	56	40	NI	NI
48	A.M.O.	ET	NE	28	56	56	NI
49	D.B.F.	NT	NE	64	176	56	NI
50	N.P.R.	T	NE	76	196	84	NI
51	E.F.B.S.	ET	NE	74	80	56	NI
52	M.O.O.	NT	NE	58	32	2	NI
53	A.M.R.	NT	NE	64	76	56	NI
54	E.P.	T	EE	172	240	NI	NI
55	C.R.	NT	NE	62	8	NI	NI
56	B.M.	NT	EE	34	56	NI	NI

continuação

57	R.S.	T	NE	106	112	56	NI
58	M.L.C.B.	NT	NE	60	80	28	NI
59	I.T.L.	NT	NE	64	48	28	NI
60	J.M.S.	NT	NE	64	88	112	NI
61	J.P.S.	T	E	92	72	56	NI
62	G.M.S.	NT	NE	92	88	56	NI
63	J.C.C.	NT	NE	136	56	NI	NI
64	L.R.R.	NT	NE	78	32	56	NI
65	N.M.M.S.	NT	NE	64	120	NI	20
66	C.N.B.	NT	NE	44	96	NI	NI
67	E.P.S.	T	E	65	40	56	NI
68	O.A.C.	T	E	78	32	56	NI
69	T.T.S.	NT	NE	80	24	28	NI
70	M.P.S.M.	NT	NE	58	88	28	NI
71	A.M.M.	NT	EE	176	96	56	NI
72	J.M.	NT	NE	164	80	84	NI
73	V.L.	T	NE	50	24	28	NI
74	M.M.S.	ET	NE	80	96	84	NI
75	J.M.S.	NT	NE	34	92	56	NI
76	M.F.M.N.	T	E	41	88	28	NI
77	A.G.	NT	NE	80	96	56	NI
78	O.O.	ET	EE	100	72	56	NI
79	A.Z.	ET	NE	70	32	84	NI
80	L.T.	ET	E	54	52	140	NI
81	P.L.	NT	NE	60	54	56	NI
82	B.F.F.	T	E	106	64	84	NI
83	W.J.T.	ET	NE	112	64	84	NI
84	L.R.P.F.	T	NE	124	3	NI	NI
85	M.R.F.	T	NE	31	80	112	NI
86	M.R.B.	NT	NE	144	68	56	NI
87	O.C.B.	ET	EE	104	31	4	NI

continuação

88	J.J.S.	ET	EE	153	84	28	NI
89	A.C.F.	NT	EE	148	72	112	NI
90	E.P.O.	NT	NE	56	80	140	NI
91	V.R.A.	ET	NE	60	32	84	NI
92	O.G.F.	NT	NE	120	80	56	NI
93	J.D.P.A.	ET	E	108	112	140	NI
94	F.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
95	C.R.K.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
96	P.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
97	T.A.F.S.	NT	NE	NR	NR	NR	NR
98	M.J	NT	NE	68	72	56	NI
99	A.F.	T	EE	NR	NR	NR	NR
100	L.P.	T	NE	NR	NR	NR	NR
101	M.A.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
103	D.V.	T	NE	82	96	NI	NI
104	C.S.	T	NE	88	108	56	NI
105	V.F.B.	T	E	80	60	28	NI
106	J.P.R.	ET	NE	49	180	14	NI
107	J.M.T.	NT	NE	76	116	NI	NI
108	C.L.S.	ET	EE	85	96	84	NI
109	J.J.F.	ET	NE	80	56	14	NI
110	M.L.R.	NT	NE	96	80	140	NI
111	J.A.O.	NT	NE	70	112	14	4
112	M.C.T.S.	NT	NE	68	80	56	NI
113	S.F.G.	T	NE	72	96	84	NI
114	I.M.M.	NT	NE	40	40	28	NI
115	T.H.Y.	ET	NE	76	96	112	NI
116	J.F.S.	ET	NE	146	32	112	NI
117	M.S.B.	NT	NE	52	80	56	NI
118	M.P.	NT	NE	136	44	140	NI
119	G.C.C.S.	NT	NE	45	56	112	NI

continuação

120	A.F.P.	NT	NE	25	36	28	NI
121	C.L.G.	NT	NE	45	40	56	NI
122	M.L.L.	ET	NE	41	80	28	NI
123	A.Z.S.	T	NE	56	16	NI	NI
124	O.D.	T	NE	34	40	NI	NI
125	H.H.C.	T	NE	86	1	56	NI
126	M.A.V.R.	NT	NE	116	62	56	32
127	A.C.S.S.	ET	NE	105	22	NI	NI
128	D.G.	T	NE	60	80	28	NI
129	G.S.D.	T	NE	127	88	140	NI
130	G.P.M.	ET	NE	91	40	140	NI
131	R.P.G.	ET	NE	60	56	140	NI
132	N.A.F.	T	EE	58	48	112	NI
133	P.T.J.	T	NE	68	52	84	NI
134	S.J.S.	NT	NE	49	8	112	NI
135	P.C.A.F.	T	NE	46	NI	NI	NI
136	M.J.S.	NT	NE	84	52	112	NI
137	R.Z.G.	NT	NE	52	60	56	NI
138	P.V.C.	ET	EE	80	28	56	NI
139	N.M.L.S.	NT	NE	89	164	NI	NI
140	M.C.C.T.R.	ET	NE	60	40	56	NI
141	W.W.O.	NT	NE	100	92	112	12
142	J.R.P.F.	T	E	68	32	112	NI
143	B.J.B.	T	NE	88	52	112	NI
144	A.B.F.	ET	NE	99	128	28	NI
145	N.S.S.	ET	NE	53	24	NI	NI
146	J.E.N.	T	NE	64	56	28	NI
147	Z.P.S.	T	NE	56	44	56	NI
148	J.L.S.	ET	E	56	144	224	NI
149	S.C.	NT	NE	58	72	84	NI
150	A.M.O.	ET	EE	66	56	NI	NI

continuação

151	A.C.A.	NT	NE	24	68	168	NI
152	N.C.A.	NT	NE	64	44	28	NI
153	L.C.T.	NT	E	77	144	56	NI
154	B.L.	NT	NE	48	84	56	NI
155	A.P.S.	NT	NE	17	68	112	NI
156	G.B.B.	NT	NE	64	72	56	NI
157	A.L.P.	NT	E	136	16	NI	NI
158	A.S.S.	NT	NE	36	92	56	NI
159	R.N.L.J.	T	EE	62	32	64	7
160	M.C.V.	NT	NE	66	72	56	NI
161	M.R.A.	NT	NE	121	34	56	NI
162	M.L.Z.C.	NT	NE	56	88	12	NI
163	G.M.	ET	E	12	88	14	NI
164	M.A.C.S.	ET	NE	65	72	112	NI
165	F.P.	NT	NE	140	64	112	NI
166	L.F.	T	E	120	112	168	NI
167	I.M.C.	ET	NE	49	136	84	NI
168	E.B.	T	EE	48	64	56	8
169	J.B.	T	NE	38	64	56	12
170	L.A.C.	NT	NE	80	4	14	NI
171	M.A.A.	ET	NE	32	24	112	NI
172	S.A.C.G.	NT	NE	48	80	140	NI
173	G.G.	ET	E	94	24	84	NI
174	P.B.	NT	E	72	72	84	NI
175	E.P.	ET	E	78	32	14	NI
176	T.G.L	NT	NR	NR	NR	NR	NR
177	O.A.V.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
178	F.X.F	NT	NR	NR	NR	NR	NR
179	A.A.S	NT	NR	NR	NR	NR	NR
180	A.D	T	NR	NR	NR	NR	NR
181	M.C.G.H	T	NR	NR	NR	NR	NR

continuação

182	M.A.T.S	NT	NR	NR	NR	NR	NR
183	E.M.F	T	NR	NR	NR	NR	NR
184	G.R.T	NT	NR	NR	NR	NR	NR
185	P.B.T	NT	NR	NR	NR	NR	NR
186	I.A.C	T	NR	NR	NR	NR	NR
187	M.L.Q.R	NT	NR	NR	NR	NR	NR
188	H.P.B	NT	NR	NR	NR	NR	NR
189	M.J.D.Q	NT	NR	NR	NR	NR	NR
190	C.O	NT	NR	NR	NR	NR	NR
191	R.A.M	NT	NR	NR	NR	NR	NR
192	J.Q.C	NT	NR	NR	NR	NR	NR
193	M.I.Z.M	NT	NR	NR	NR	NR	NR
194	G.A.S.A	NT	NR	NR	NR	NR	NR
195	H.S	NT	NR	NR	NR	NR	NR
196	M.A.I.M	NT	NR	NR	NR	NR	NR
197	S.M.J	NT	NR	NR	NR	NR	NR
198	D.S	NT	NR	NR	NR	NR	NR
199	A.O.S.F	NT	NR	NR	NR	NR	NR
200	J.J.S	NT	NR	NR	NR	NR	NR
201	J.T	NT	NR	NR	NR	NR	NR
202	V.E	T	NR	NR	NR	NR	NR
203	M.A.I.P.	T	NR	NR	NR	NR	NR
204	J.S.M.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
205	M.V.	T	NR	NR	NR	NR	NR
206	L.A.R.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
207	A.C.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
208	A.V.F.	T	NR	NR	NR	NR	NR
209	L.F.S.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
210	O.P.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
211	M.V.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
212	A.P.	T	NR	NR	NR	NR	NR

continuação

213	O.F.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
214	V.S.C.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
215	R.S.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
216	J.O.E.	T	NR	NR	NR	NR	NR
217	G.P.A.	T	NR	NR	NR	NR	NR
218	D.F.A.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
219	D.J.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
220	P.A.B.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
221	L.B.O.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
222	J.A.P.C.	T	NR	NR	NR	NR	NR
223	R.F.R.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
224	M.F.C.	T	NR	NR	NR	NR	NR
225	M.M.S.S.	T	NR	NR	NR	NR	NR
226	E.S	T	NR	NR	NR	NR	NR
227	A.C.S.	T	NR	NR	NR	NR	NR
228	G.B.M.N.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
229	R.N.M.C.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
230	B.A.	T	NR	NR	NR	NR	NR
231	L.B.L.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
232	E.S.F.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
233	C.G.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
234	O.C.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
235	M.B.F.	T	NR	NR	NR	NR	NR
236	M.F.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
237	A.C.G.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
238	A.B.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
239	A.R.G.	T	NR	NR	NR	NR	NR
240	J.M.F.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
241	M.A.G.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
242	J.C.	T	NR	NR	NR	NR	NR
243	I.A.P.S.	NT	NR	NR	NR	NR	NR

continuação

244	M.G.	T	NR	NR	NR	NR	NR
245	J.B.G.G.	T	NR	NR	NR	NR	NR
246	J.G.S.	T	NR	NR	NR	NR	NR
247	L.R.R.	T	NR	NR	NR	NR	NR
248	O.L.	NT	NR	NR	NR	NR	NR
249	S.T.	T	NR	NR	NR	NR	NR
250	H.S.S.J.	ET	NR	NR	NR	NR	NR
251	C.A.S.	ET	NE	128	120	84	NI
252	W.D.	NT	NE	42	136	56	NI
253	A.C.S.M.	NT	NE	36	168	84	28
254	A.Z.	NT	NE	70	88	168	NI

T, tabagista; NT, não tabagista; ET, ex-tabagista; E, etilista; NE, não etilista; EE, ex-etilista; NI, não ingere; NR, não realizado

ANEXO 8

Distribuição dos 257 controlos de acordo com a idade, o sexo e a raça

N.º do Caso	Doador	Idade	Sexo	Raça
1	M.A.R.C.	64	F	C
2	P.B.S.	58	M	C
3	S.M.S.	61	M	N
4	M.L.V.S.	64	F	C
5	M.H.P.S.	58	F	C
6	E.P.T.	66	M	N
7	N.P.S.	55	M	C
8	N.G.A.B.	57	F	C
9	M.V.G.	64	M	C
10	A.A.G.	61	M	C
11	F.B.	54	M	C
12	W.M.C	59	M	C
13	J.F.N.	66	M	C
14	N.M.J.G.	60	F	C
15	J.C.	59	M	C
16	C.D.	61	M	C
17	B.E.	60	M	C
18	J.A.S.	58	M	N
19	C.S.F.	59	F	C
20	J.A.N.	59	M	N
21	M.P.S.L.	64	F	C
22	J.F.S.	64	M	C
23	A.R.T.	60	M	C
24	N.S.	63	M	N
25	E.T.	62	M	C
26	J.C.A.N.	60	M	N
27	J.R.C.	57	M	
28	D.I.S.D.	58	F	C

continuação

29	A.N.P.	63	M	C
30	J.C.S.	57	M	C
31	M.S.S.	64	F	N
32	O.J.	65	M	C
33	V.O.	57	M	C
34	M.J.S.	60	M	C
35	E.G.O.	64	M	C
36	L.T.G.	58	F	C
37	J.M.L.	57	M	C
38	H.J.M.	57	M	C
39	E.P.A.	57	F	C
40	M.C.	62	M	C
41	M.N.	60	M	C
42	A.D.C.	59	M	C
43	B.F.P.C.	65	M	N
44	V.P.T.	57	M	N
45	A.P.M.	63	M	C
46	S.R.	63	M	C
47	J.B.B.M.	58	M	C
48	M.L.S.	63	F	C
49	M.G.B.	66	M	C
50	G.P.S.	58	M	C
51	J.S.	57	M	N
52	L.T.O.	65	F	C
53	E.B.N.	59	M	C
54	U.T.	57	M	C
55	J.G.S.	60	M	C
56	J.G.A.S.	62	M	C
57	P.J.S.	62	M	C
58	A.S.L.	64	F	C
59	D.A.S.	60	M	C

continuação

60	P.A.S.	62	M	C
61	A.L.A.	59	F	C
62	J.G.S.S.	59	M	C
63	J.R.C.	58	M	C
64	J.P.S.	62	M	C
65	J.C.L.	60	M	C
66	J.M.F.	58	M	C
67	I.R.P.	63	F	C
68	L.A.S.	63	F	C
69	O.M.	57	M	C
70	A.V.G.	59	F	C
71	D.A.A.	57	M	N
72	N.Y.	65	M	A
73	J.M.S.	60	F	C
74	V.S.P.F.	63	F	C
75	J.A.F.	66	M	C
76	J.A.C.	65	M	C
77	C.D.	60	M	N
78	A.D.	59	M	C
79	H.C.L.	63	F	C
80	L.G.O.	64	M	C
81	W.M.S.	64	M	C
82	R.B.A.N.	63	M	C
83	A.B.S.	58	M	C
84	A.O.L.	62	M	C
85	E.B.	63	M	C
86	M.A.B.B.	58	F	C
87	A.C.F.	57	M	C
88	T.A.F.	57	F	N
89	F.L.G.F.	57	M	C
90	A.B.C.M.	62	M	C

continuação

91	P.N.O.S.	63	M	C
92	V.A.	61	M	C
93	C.J.F.	59	M	C
94	L.G.T.	66	M	C
95	A.R.S.	65	M	N
96	A.R.	57	M	N
97	E.F.S.	58	M	N
98	L.M.	60	M	N
99	V.A.	62	M	C
100	O.R.P.	63	M	C
101	M.C.P.	57	F	C
102	J.A.S.	64	M	C
103	J.B.M.L.	59	M	C
104	H.P.L.	65	M	N
105	J.S.N.	65	M	C
106	A.S.	58	M	C
107	J.S.F.P.	57	M	C
108	S.P.U.	57	F	C
109	C.A.P.	57	M	N
110	A.B.	58	M	C
111	F.D.	59	M	C
112	B.B.	64	M	C
113	S.F.R.	63	M	C
114	E.F.S.	59	M	N
115	B.A.	63	M	C
116	J.P.A.	64	M	C
117	A.L.G.	58	M	C
118	A.C.B.	63	M	C
119	R.R.E.	62	M	C
120	N.C.	58	M	C
121	A.C.C.	57	M	C

continuação

122	A.R.P.	57	M	C
123	S.B.	57	M	C
124	M.P.M.	66	F	C
125	M.J.G.J.	58	F	N
126	R.F.M.	65	M	C
127	L.C.	63	M	C
128	E.C.B.	56	F	C
129	M.J.B.	65	M	C
130	S.T.	57	M	N
131	L.A.S.B.	62	M	C
132	M.H.P.	67	M	C
133	O.C.	58	M	C
134	J.D.S.	67	M	C
135	G.T.L.	60	M	C
136	I.F.	64	M	C
137	J.V.F.	60	M	C
138	C.A.F.	58	M	C
139	F.P.B.	57	M	N
140	W.F.	67	M	C
141	G.T.S.	58	M	N
142	J.S.	61	M	C
143	A.L.F.	58	M	C
144	O.S.R.	57	M	C
145	B.C.	63	M	C
146	A.C.C.	59	M	C
147	K.K.	63	M	C
148	J.P.L.F.	59	M	C
149	A.S.	58	M	C
150	J.M.S.	57	M	C
151	J.C.M.	57	M	C
152	B.J.Z.	59	M	N

continuação

153	C.M.	66	M	C
154	M.S.	61	M	C
155	C.R.	58	F	C
156	A.F.D.O.	66	F	N
157	J.A.S.	66	M	C
158	A.C.S.R.	59	M	C
159	J.R.F.	62	M	N
160	S.T.	60	M	C
161	A.C.S.	56	M	C
162	E.C.C.	59	M	C
163	M.F.N.	58	M	C
164	Z.F.	61	F	C
165	E.S.R.	67	M	N
166	F.S.	58	M	C
167	J.M.H.M.	62	M	C
168	R.B.M.	63	M	C
169	L.O.	59	M	N
170	J.R.S.	62	M	C
171	C.P.L.	60	F	C
172	T.J.P.R.	61	F	C
173	L.S.S.	60	M	C
174	A.C.	61	M	C
175	V.A.B.	60	M	C
176	S.P.B.	58	M	C
177	E.C.L.	57	M	C
178	D.B.	59	M	C
179	A.P.	66	M	C
180	L.A.L.	61	M	C
181	A.R.O.	58	M	C
182	R.M.	58	M	C
183	A.R.	65	M	C

continuação

184	A.J.	59	M	C
185	M.R.S.	60	M	C
186	L.G.	63	M	C
187	M.C.T.	65	F	C
188	S.N.	62	M	C
189	F.A.S.	57	M	C
190	A.G.	59	M	C
191	L.F.S.	58	M	C
192	L.O.R.	65	F	C
193	P.R.	60	M	C
194	J.E.P.	65	M	C
195	J.S.B.	64	M	C
196	M.A.T.	59	F	C
197	J.C.Q.	62	M	C
198	A.B.	63	M	C
199	J.I.A.	62	M	N
200	F.B.F.	59	M	C
201	R.M.	61	M	C
202	C.M.	61	F	C
203	D.L.S.	63	F	C
204	A.A.Z.	63	F	C
205	J.V.R.	61	M	N
206	M.B.M.	64	F	C
207	J.F.S.	58	M	C
208	I.M.L.C.	59	F	C
209	C.C.P.	64	M	C
210	T.F.M.	60	F	C
211	A.M.S.C.	61	F	N
212	F.D.F.	66	M	C
213	J.L.S.	59	M	C
214	A.A.B.P.	61	F	C

continuação

215	J.A.S.	58	M	C
216	A.S.F.	59	M	C
217	W.F.	63	M	N
218	L.S.	59	M	C
219	M.J.S.	60	M	C
220	W.A.C.	63	M	C
221	L.A.S.	65	M	C
222	A.C.	60	M	C
223	B.T.N.	62	M	C
224	A.B.	57	M	C
225	A.L.R.	60	M	C
226	J.A.S.	62	M	N
227	R.A.L.	57	M	C
228	A.R.	62	M	C
229	O.F.	59	M	C
230	J.B.O.	58	M	C
231	C.V.S.	62	M	N
232	J.A.R.	67	M	C
233	A.B.	65	M	C
234	J.R.S.	58	M	C
235	W.V.S.	59	M	C
236	J.S.	58	M	C
237	M.A.C.G.	59	F	C
238	M.A.R.S.M.	57	F	C
239	E.P.I.	65	F	C
240	D.M.B.	61	F	C
241	J.S.N.	66	M	C
242	E.A.C.	58	M	C
243	C.S.F.	60	F	C
244	M.S.F.	66	M	C
245	C.M.C.	57	F	C

continuação

246	E.A.B.	62	F	C
247	O.N.I.S.M.	59	F	C
248	B.A.	62	F	C
249	G.S.P.S.	63	F	C
250	M.S.O.R.	61	F	C
251	M.P.S.G	56	F	N
252	M.S.C.O.	59	F	C
253	N.R.P.	59	F	C
254	M.D.A.L.	59	F	C
255	C.S.T.	65	F	C
256	D.A.A.	60	F	C
257	M.G.R.	63	F	C

N.º, número; F, feminino; M, masculino; C, caucasiano; N, negróide; A, asiático

ANEXO 9

Distribuição dos controles de acordo com o hábito de fumar, o etilismo e o consumo mensal de carnes, verduras e leguminosas, frutas e cereais integrais

N.º do caso	Doador	Tabagismo	Etilismo	Consumo (porções/mês)			
				Carnes	Verduras e Leguminosas	Frutas	Cereais Integrais
1	M.A.R.C.	NT	NE	26	96	224	NI
2	P.B.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
3	S.M.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
4	M.L.V.S.	NT	NE	20	12	56	NI
5	M.H.P.S.	NT	NE	25	136	56	28
6	E.P.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
7	N.P.S.	NT	NE	56	72	112	NI
8	N.G.A.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
9	M.V.G.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
10	A.A.G.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
11	F.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
12	W.M.C	ET	NE	56	4	112	NI
13	J.F.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
14	N.M.J.G.	NT	NE	61	84	56	2
15	J.C.	T	NE	50	64	149	28
16	C.D.	ET	NE	65	136	140	NI
17	B.E.	NT	NE	42	40	28	NI
18	J.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
19	C.S.F.	NT	NE	38	112	56	NI
20	J.A.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21	M.P.S.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
22	J.F.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
23	A.R.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
24	N.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
25	E.T.	T	E	96	168	84	NI

continuação

26	J.C.A.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
27	J.R.C.	T	NE	78	96	140	NI
28	D.I.S.D.	NT	NE	48	36	56	NI
29	A.N.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
30	J.C.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
31	M.S.S.	T	NE	46	96	28	NI
32	O.J.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
33	V.O.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
34	M.J.S.	NT	NE	42	88	NI	NI
35	E.G.O.	ET	NE	28	64	28	NI
36	L.T.G.	T	NE	48	68	56	NI
37	J.M.L.	T	E	61	48	8	NI
38	H.J.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
39	E.P.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
40	M.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
41	M.N.	T	E	50	5	14	NI
42	A.D.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
43	B.F.P.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
44	V.P.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	A.P.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
46	S.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
47	J.B.B.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
48	M.L.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
49	M.G.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
50	G.P.S.	NT	NE	56	104	84	NI
51	J.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
52	L.T.O.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
53	E.B.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
54	U.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
55	J.G.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
56	J.G.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR

ANEXO 9

continuação

57	P.J.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
58	A.S.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
59	D.A.S.	T	NE	32	NI	NI	NI
60	P.A.S.	NT	NE	88	36	NI	NI
61	A.L.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
62	J.G.S.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
63	J.R.C.	NT	NE	26	60	84	28
64	J.P.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
65	J.C.L.	NT	NE	56	32	16	8
66	J.M.F.	T	E	28	24	84	NI
67	I.R.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
68	L.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
69	O.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
70	A.V.G.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
71	D.A.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
72	N.Y.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
73	J.M.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
74	V.S.P.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
75	J.A.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
76	J.A.C.	NT	E	72	144	84	NI
77	C.D.	NT	NE	14	48	8	16
78	A.D.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
79	H.C.L.	NT	NE	41	128	84	8
80	L.G.O.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
81	W.M.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
82	R.B.A.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
83	A.B.S.	NT	NE	76	100	12	2
84	A.O.L.	NT	NE	49	72	56	NI
85	E.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
86	M.A.B.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
87	A.C.F.	T	E	46	128	56	NI

ANEXO 9

continuação

88	T.A.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
89	F.L.G.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
90	A.B.C.M.	ET	NE	132	120	140	NI
91	P.N.O.S.	NT	NE	76	128	56	NI
92	V.A.	ET	NE	70	44	28	NI
93	C.J.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
94	L.G.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
95	A.R.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
96	A.R.	T	E	53	56	28	NI
97	E.F.S.	NT	NE	61	120	140	NI
98	L.M.	NT	NE	54	28	14	NI
99	V.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
100	O.R.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
101	M.C.P.	ET	NE	20	128	112	NI
102	J.A.S.	NT	NE	52	88	84	NI
103	J.B.M.L.	ET	NE	56	80	84	NI
104	H.P.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
105	J.S.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
106	A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
107	J.S.F.P.	T	NE	104	76	56	NI
108	S.P.U.	NT	NE	66	96	56	20
109	C.A.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
110	A.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
111	F.D.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
112	B.B.	NT	NE	35	49	84	28
113	S.F.R.	NT	NE	72	112	112	NI
114	E.F.S.	ET	NE	33	128	112	NI
115	B.A.	NT	NE	33	160	56	NI
116	J.P.A.	ET	NE	28	56	56	56
117	A.L.G.	ET	NE	44	36	168	NI
118	A.C.B.	ET	EE	26	112	112	NI

continuação

119	R.R.E.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
120	N.C.	NT	EE	65	65	168	NI
121	A.C.C.	NT	NE	90	56	28	NI
122	A.R.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
123	S.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
124	M.P.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
125	M.J.G.J.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
126	R.F.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
127	L.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
128	E.C.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
129	M.J.B.	ET	E	50	112	56	NI
130	S.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
131	L.A.S.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
132	M.H.P.	T	NE	76	92	56	NI
133	O.C.	NT	NE	64	80	56	NI
134	J.D.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
135	G.T.L.	ET	NE	62	NI	112	16
136	I.F.	ET	EE	46	64	56	NI
137	J.V.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
138	C.A.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
139	F.P.B.	NT	NE	72	39	56	NI
140	W.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
141	G.T.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
142	J.S.	ET	NE	88	80	56	NI
143	A.L.F.	NT	NE	36	32	28	NI
144	O.S.R.	NT	EE	72	116	56	NI
145	B.C.	NT	NE	74	6	NI	NI
146	A.C.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
147	K.K.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
148	J.P.L.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
149	A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR

ANEXO 9

continuação

150	J.M.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
151	J.C.M.	NT	NE	50	144	84	8
152	B.J.Z.	ET	EE	68	116	NI	NI
153	C.M.	ET	NE	33	40	56	NI
154	M.S.	T	NE	60	92	84	NI
155	C.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
156	A.F.D.O.	ET	NE	8	80	140	56
157	J.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
158	A.C.S.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
159	J.R.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
160	S.T.	NT	NE	24	100	28	4
161	A.C.S.	ET	NE	64	104	112	NI
162	E.C.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
163	M.F.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
164	Z.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
165	E.S.R.	ET	NE	48	96	28	NI
166	F.S.	NT	NE	98	72	28	NI
167	J.M.H.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
168	R.B.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
169	L.O.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
170	J.R.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
171	C.P.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
172	T.J.P.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
173	L.S.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
174	A.C.	NT	NE	26	44	56	NI
175	V.A.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
176	S.P.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
177	E.C.L.	ET	NE	48	56	12	NI
178	D.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
179	A.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
180	L.A.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR

ANEXO 9

continuação

181	A.R.O.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
182	R.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
183	A.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
184	A.J.	ET	NE	38	114	NI	NI
185	M.R.S.	T	NE	52	72	84	NI
186	L.G.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
187	M.C.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
188	S.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
189	F.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
190	A.G.	T	NE	68	60	NI	NI
191	L.F.S.	ET	NE	74	8	56	NI
192	L.O.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
193	P.R.	NT	NE	15	88	NI	NI
194	J.E.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
195	J.S.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
196	M.A.T.	NT	NE	98	128	84	24
197	J.C.Q.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
198	A.B.	NT	NE	56	88	56	NI
199	J.I.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
200	F.B.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
201	R.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
202	C.M.	NT	NE	49	44	84	NI
203	D.L.S.	NT	NE	15	104	28	20
204	A.A.Z.	NT	NE	35	48	84	NI
205	J.V.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
206	M.B.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
207	J.F.S.	NT	NE	52	96	56	NI
208	I.M.L.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
209	C.C.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
210	T.F.M.	NT	NE	32	48	84	NI
211	A.M.S.C.	NT	NE	34	152	56	4

ANEXO 9

continuação

212	F.D.F.	NT	NE	32	44	140	NI
213	J.L.S.	T	NE	37	52	84	NI
214	A.A.B.P.	NT	NE	22	88	84	28
215	J.A.S.	NT	NE	22	36	56	8
216	A.S.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
217	W.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
218	L.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
219	M.J.S.	ET	EE	68	60	42	NI
220	W.A.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
221	L.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
222	A.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
223	B.T.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
224	A.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
225	A.L.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
226	J.A.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
227	R.A.L.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
228	A.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
229	O.F.	NT	E	38	80	84	NI
230	J.B.O.	T	E	67	8	56	NI
231	C.V.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
232	J.A.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
233	A.B.	ET	NE	88	96	112	8
234	J.R.S.	ET	EE	80	60	NI	NI
235	W.V.S.	NT	E	44	88	84	NI
236	J.S.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
237	M.A.C.G.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
238	M.A.R.S.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
239	E.P.I.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
240	D.M.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
241	J.S.N.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
242	E.A.C.	NT	NE	56	96	14	NI

ANEXO 9

continuação

243	C.S.F.	NT	NE	38	72	28	NI
244	M.S.F.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
245	C.M.C.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
246	E.A.B.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
247	O.N.I.S.M.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
248	B.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
249	G.S.P.S.	NT	NE	52	88	14	NI
250	M.S.O.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
251	M.P.S.G	NT	NE	33	112	28	16
252	M.S.C.O.	NT	NE	22	70	56	4
253	N.R.P.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
254	M.D.A.L.	NT	NE	55	50	56	NI
255	C.S.T.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
256	D.A.A.	NR	NR	NR	NR	NR	NR
257	M.G.R.	NR	NR	NR	NR	NR	NR

T, tabagista; NT, não tabagista; ET, ex-tabagista; E, etilista; NE, não etilista; EE, ex-etilista; NI, não ingere; NR, não realizado

ANEXO 10

Distribuição dos pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico de acordo com os polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* e NAT1*4 e *10 do gene *NAT1*

Nº	Paciente	<i>CYP1A1</i>		<i>NAT1</i>
		T6235C (M1)	A4889G (M2)	
1	M.D.D.S.	TT	AA	4/4
2	S.A.D.S.F.	TT	AA	4/4
3	A.M.B.	NR	NR	NR
4	J.S.C.	TT	AA	4/4
5	A.G.B.	NR	NR	NR
6	M.A.A.B.	TT	AA	4/4
7	I.J.S.	TT	AA	4/10
8	L.T.F.	TT	AA	4/10
9	A.F.S.	TT	AA	4/10
10	M.L.P.F.	TT	AA	4/3
11	P.P.	TT	AA	4/3
12	J.A.G.	TC	GG	4/3
13	A.G.S.	TT	AA	4/4
14	M.R.	NR	AA	4/10
15	M.C.S.	TT	AA	4/4
16	H.M.	TT	AA	4/4
17	H.S.	TT	AA	4/4
18	M.A.C.J.	TC	AA	4/3
19	M.T.	TC	AA	4/10
20	P.B.	TT	AA	10/10
21	M.C.G.	TC	AG	4/4
22	F.P.	TC	AG	4/10
23	A.V.S.	TT	AA	10/10
24	D.P.F.G.	TT	AA	4/10
25	L.S.	TT	AA	4/10
26	G.C.S.	TT	AA	4/4
27	J.J.L.	TC	AG	4/4

continuação

28	J.E.G.	TC	AA	4/10
29	M.A.L.S.	TC	AA	4/4
30	A.F.S.	TC	AG	4/4
31	A.F.S.	TT	AA	10/10
32	M.H.S.	TT	AA	4/3
33	J.P.R.	TT	AA	4/10
34	A.C.S.	TT	AA	4/3
35	A.A.	TT	AA	4/4
36	I.A.T.	TT	AA	4/4
37	A.F.	TC	AA	4/4
38	A.F.	TT	AA	4/10
39	J.J.C.	TC	AA	4/4
40	L.P.S.	TT	AA	4/4
41	J.Z.F.	TT	AA	4/10
42	M.M.F.A.	TC	AA	4/10
43	O.I.D.A.	TT	AA	4/10
44	R.J.C.G.	TT	AA	4/3
45	H.B.M.	TC	AA	10/10
46	C.R.O.	CC	GG	4/3
47	D.M.C.	TT	AA	3/10
48	A.M.O.	TT	AA	4/10
49	D.B.F.	TT	AA	4/4
50	N.P.R.	TT	AA	4/4
51	E.F.B.S.	TT	AA	4/3
52	M.O.O.	CC	AG	4/4
53	A.M.R.	TC	AA	4/4
54	E.P.	TT	AA	4/3
55	C.R.	TT	AG	4/3
56	B.M.	TT	AA	4/10
57	R.S.	TT	AA	3/10
58	M.L.C.B.	TT	AA	4/4
59	I.T.L.	TC	AG	4/3

continuação

60	J.M.S.	TC	AA	4/4
61	J.P.S.	CC	GG	4/10
62	G.M.S.	TC	AA	4/4
63	J.C.C.	TC	AA	4/10
64	L.R.R.	TT	AA	4/10
65	N.M.M.S.	NR	AG	4/3
66	C.N.B.	TC	AG	4/4
67	E.P.S.	TC	AG	4/4
68	O.A.C.	TC	AA	4/4
69	T.T.S.	TC	AA	4/4
70	M.P.S.M.	TC	AG	4/3
71	A.M.M.	TT	AA	4/3
72	J.M.	TT	AA	4/3
73	V.L.	TC	AA	4/10
74	M.M.S.	TT	AA	4/4
75	J.M.S.	TC	AA	4/3
76	M.F.M.N.	TC	GG	4/3
77	A.G.	TC	AA	4/3
78	O.O.	TT	AA	4/10
79	A.Z.	TC	GG	4/10
80	L.T.	TT	AA	4/4
81	P.L.	TC	GG	4/3
82	B.F.F.	TT	AA	10/10
83	W.J.T.	TC	AG	4/10
84	L.R.P.F.	TT	AG	3/10
85	M.R.F.	TC	AG	4/4
86	M.R.B.	TC	AG	4/3
87	O.C.B.	TT	AA	4/3
88	J.J.S.	TT	AA	4/4
89	A.C.F.	TT	AA	4/4
90	E.P.O.	TT	GG	4/10
91	V.R.A.	TC	AG	4/4

continuação

92	O.G.F.	CC	GG	10/10
93	J.D.P.A.	TT	AA	4/4
94	F.S.	CC	AG	10/10
95	C.R.K.P.	TT	AA	4/4
96	P.F.	TT	AA	4/4
97	T.A.F.S.	TC	AG	4/4
98	M.J.	TC	AA	4/3
99	A.F.	TT	AA	4/10
100	L.P.	TT	AA	4/4
101	M.A.M.	TT	AA	4/10
102	C.S.	TC	AG	4/4
103	D.V.	TT	AA	4/4
104	C.S.	TT	AA	4/4
105	V.F.B.	TT	AA	4/3
106	J.P.R.	TT	AA	4/10
107	J.M.T.	TT	AA	4/3
108	C.L.S.	TT	AA	4/3
109	J.J.F.	TT	AA	4/4
110	M.L.R.	TT	AA	4/10
111	J.A.O.	TT	GG	4/4
112	M.C.T.S.	TT	GG	4/3
113	S.F.G.	TC	AA	4/3
114	I.M.M.	TT	GG	4/4
115	T.H.Y.	TT	AA	10/10
116	J.F.S.	TC	AG	10/10
117	M.S.B.	TT	AA	4/3
118	M.P.	TT	AA	4/4
119	G.C.C.S.	TT	AA	3/3
120	A.F.P.	TT	AA	4/3
121	C.L.G.	TT	AA	4/3
122	M.L.L.	TC	AA	4/4
123	A.Z.S.	TT	AA	4/10

continuação

124	O.D.	TT	AG	4/4
125	H.H.C.	TT	AA	4/4
126	M.A.V.R.	TT	AA	4/10
127	A.C.S.S.	TT	AA	4/3
128	D.G.	TT	AA	4/10
129	G.S.D.	TC	AA	4/10
130	G.P.M.	TC	AG	4/4
131	R.P.G.	CC	GG	4/10
132	N.A.F.	TT	AA	4/10
133	P.T.J.	TT	AA	4/4
134	S.J.S.	TT	AA	4/10
135	P.C.A.F.	TT	AA	4/4
136	M.J.S.	TT	AA	4/4
137	R.Z.G.	TT	AA	4/4
138	P.V.C.	TC	AG	4/4
139	N.M.L.S.	TC	AA	4/3
140	M.C.C.T.R.	TT	AA	4/3
141	W.W.O.	TT	AA	4/4
142	J.R.P.F.	TT	AA	4/3
143	B.J.B.	TT	AA	4/10
144	A.B.F.	TT	AA	4/4
145	N.S.S.	TT	AA	4/4
146	J.E.N.	TT	AA	4/4
147	Z.P.S.	TT	AA	4/3
148	J.L.S.	TT	AG	10/10
149	S.C.	TT	AA	4/4
150	A.M.O.	TT	AA	4/4
151	A.C.A.	TT	AA	4/4
152	N.C.A.	TT	AA	4/4
153	L.C.T.	TT	AA	4/3
154	B.L.	TT	AA	4/10
155	A.P.S.	TT	AA	4/3

continuação

156	G.B.B.	TT	AA	4/10
157	A.L.P.	TC	AA	4/4
158	A.S.S.	TT	AA	NR
159	R.N.L.J.	TT	AA	4/4
160	M.C.V.	TT	AA	4/4
161	M.R.A.	TT	AA	4/3
162	M.L.Z.C.	TT	AA	4/4
163	G.M.	TT	AA	4/4
164	M.A.C.S.	TC	GG	4/4
165	F.P.	TT	AA	4/4
166	L.F.	TT	AA	4/4
167	I.M.C.	TT	AA	4/4
168	E.B.	TT	AA	4/4
169	J.B.	TT	AA	4/4
170	L.A.C.	TT	AA	4/10
171	M.A.A.	TT	AA	4/4
172	S.A.C.G.	TT	AA	4/3
173	G.G.	TC	AA	4/3
174	P.B.	TC	AG	4/3
175	E.P.	TT	AG	4/3
176	T.G.L	TT	AA	4/4
177	O.A.V.	TT	AA	4/10
178	F.X.F	TT	AA	4/4
179	A.A.S	TT	AA	4/4
180	A.D	TC	AG	4/4
181	M.C.G.H	TT	AA	4/4
182	M.A.T.S	TT	AA	4/10
183	E.M.F	TT	AA	10/10
184	G.R.T	TC	AA	4/4
185	P.B.T	TC	AG	4/4
186	I.A.C	TT	AA	4/4
187	M.L.Q.R	TT	AA	4/4

continuação

188	H.P.B	TT	AA	4/10
189	M.J.D.Q	TT	AA	4/10
190	C.O	TT	AA	4/4
191	R.A.M	TT	AA	4/4
192	J.Q.C	TT	AA	4/4
193	M.I.Z.M	TT	AA	4/4
194	G.A.S.A	TT	AA	4/10
195	H.S	TC	AA	4/3
196	M.A.I.M	TT	AA	4/4
197	S.M.J	TT	AA	4/4
198	D.S	TT	AA	4/4
199	A.O.S.F	TT	AA	4/4
200	J.J.S	TT	AA	4/4
201	J.T	TC	AG	4/10
202	V.E	CC	GG	4/4
203	M.A.I.P.	TT	AA	10/10
204	J.S.M.	TC	AG	4/4
205	M.V.	CC	AG	4/3
206	L.A.R.S.	CC	GG	10/10
207	A.C.S.	TC	AG	4/4
208	A.V.F.	TT	AA	4/4
209	L.F.S.	TT	AA	4/10
210	O.P.	TC	AG	4/4
211	M.V.	TT	AA	NR
212	A.P.	TT	AA	4/4
213	O.F.	TT	AA	4/4
214	V.S.C.	TC	AA	4/4
215	R.S.S.	TT	AA	4/3
216	J.O.E.	TC	AA	4/10
217	G.P.A.	TC	AA	4/4
218	D.F.A.	TT	AA	4/4
219	D.J.S.	TT	AA	4/4

continuação

220	P.A.B.	TT	AA	4/4
221	L.B.O.	TT	AA	4/4
222	J.A.P.C.	TT	AA	4/4
223	R.F.R.	TT	AG	4/3
224	M.F.C.	TC	AG	4/3
225	M.M.S.S.	TT	AA	4/4
226	E.S	TC	AG	4/4
227	A.C.S.	TT	AG	4/10
228	G.B.M.N.	TC	AA	4/10
229	R.N.M.C.	TT	AA	4/4
230	B.A.	TT	AA	4/4
231	L.B.L.	TT	AA	4/10
232	E.S.F.	TT	AA	4/4
233	C.G.S.	TT	AA	4/4
234	O.C.	TT	AA	4/10
235	M.B.F.	TC	AG	4/3
236	M.F.S.	TT	AA	4/4
237	A.C.G.	TT	AA	4/4
238	A.B.	TT	AA	4/4
239	A.R.G.	TT	AA	4/3
240	J.M.F.	TT	AA	4/4
241	M.A.G.	TT	AA	4/3
242	J.C.	TT	AA	4/10
243	I.A.P.S.	TC	AA	4/4
244	M.G.	TT	AA	4/3
245	J.B.G.G.	TT	AA	4/4
246	J.G.S.	TT	AA	4/4
247	L.R.R.	TT	AA	4/3
248	O.L.	TT	AG	4/4
249	S.T.	TT	AA	4/4
250	H.S.S.J.	TC	AA	4/10
251	C.A.S.	TT	AG	4/10

continuação

252	W.D.	TT	AA	4/3
253	A.C.S.M.	NR	NR	NR
254	A.Z.	NR	NR	NR

NR, não realizado; TT, forma selvagem; TC, variante em heterozigose; CC, variante em homozigose (polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*); AA, forma selvagem; AG, variante em heterozigose; GG, variante em homozigose (polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*); 4/4, forma selvagem; 4/10, variante em heterozigose; 10/10, variante em homozigose (polimorfismo do gene *NAT1*)

ANEXO 11

Distribuição dos controles de acordo com os polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* e NAT1*10 do gene *NAT1*

Doador	<i>CYP1A1</i>		<i>NAT1</i>
	T6235C	A4889G	NAT1*4 e *10
1D	TT	AA	4/10
2D	TT	AA	4/10
3D	TT	AA	4/10
4D	TT	AA	4/4
5D	TT	AA	4/4
6D	TC	AA	4/10
7D	TT	AA	4/4
8D	TT	AA	4/10
9D	TT	AA	4/3
10D	TT	AA	4/3
11D	TC	AA	10/10
12D	TT	AA	4/4
13D	TT	AA	4/4
14D	TC	AA	4/4
15D	TC	AA	4/4
16D	TT	AA	4/4
17D	TC	AA	4/4
18D	TC	AA	4/4
19D	TT	AA	4/4
20D	TT	AA	4/3
21D	TC	AA	4/4
22D	TT	AA	4/4
23D	TT	AA	4/4
24D	TT	AA	4/3
25D	TT	AG	4/4
26D	TC	AA	4/4

continuação

27D	TT	AA	4/4
28D	TT	AA	4/4
29D	TC	AA	4/4
30D	TT	AA	4/4
31D	TT	AA	4/4
32D	TC	AA	4/3
33D	TT	AA	4/4
34D	CC	AA	4/3
35D	TT	AA	4/4
36D	TT	AA	4/4
37D	TT	AA	4/4
38D	TT	AA	4/10
39D	TC	AA	4/4
40D	TT	AA	4/4
41D	TT	AA	10/10
42D	TC	AA	4/4
43D	TC	AA	10/10
44D	TC	AA	4/3
45D	CC	AA	4/3
46D	TT	AA	3/10
47D	TT	AA	4/3
48D	TT	AG	4/4
49D	TC	AA	4/4
50D	TT	AG	4/4
51D	TT	AA	4/4
52D	TC	GG	4/4
53D	TC	AG	4/4
54D	TT	AA	4/10
55D	CC	GG	4/4
56D	TC	AG	4/4
57D	TT	AA	4/3
58D	CC	GG	4/3

continuação

59D	TT	AA	4/4
60D	TT	AG	4/4
61D	TC	AA	4/4
62D	TT	AA	4/4
63D	TC	AA	4/4
64D	TT	AG	4/10
65D	TT	AA	4/4
66D	TT	AG	4/4
67D	CC	AG	4/4
68D	TT	AA	3/10
69D	TT	AA	4/4
70D	TT	AA	4/4
71D	TT	AA	4/4
72D	TC	AA	4/4
73D	CC	AG	10/10
74D	TT	AA	4/4
75D	TT	AA	4/4
76D	TC	AA	4/4
77D	TT	AA	4/10
78D	TT	AG	4/4
79D	TT	AA	4/4
80D	TT	AG	4/4
81D	TC	AA	4/4
82D	TT	AG	4/3
83D	TT	AA	4/3
84D	CC	AG	4/3
85D	TC	AG	4/4
86D	TT	AA	4/4
87D	TT	AA	4/3
88D	TT	AA	4/3
89D	TT	AA	4/3
90D	TT	AA	4/3

continuação

91D	TT	AG	NR
92D	TT	AA	4/4
93D	TT	AA	4/4
94D	TT	AG	4/4
95D	TC	NR	NR
96D	TT	AG	4/10
97D	TT	AA	4/10
98D	TT	AG	4/10
99D	TT	AA	4/4
100D	TC	AA	4/10
101D	TT	AA	4/3
102D	TT	AG	4/4
103D	TT	AG	4/10
104D	TC	AA	4/3
105D	TT	AA	4/3
106D	TT	AA	4/3
107D	TC	AG	4/3
108D	TC	AG	4/4
109D	TC	AG	4/3
110D	TC	AA	4/4
111D	TT	AA	4/3
112D	TT	AG	4/3
113D	TT	AA	4/4
114D	TC	AA	4/10
115D	TC	AA	4/3
116D	TC	AA	4/4
117D	TT	AA	4/4
118D	TT	AA	4/4
119D	TC	AA	4/4
120D	TC	AG	4/4
121D	TT	AA	4/4
122D	TT	AA	4/10

continuação

123D	TT	AA	10/10
124D	TT	AA	4/10
125D	TT	AA	4/3
126D	TT	AA	4/10
127D	TT	AG	4/4
128D	TC	AG	4/4
129D	TC	AA	4/3
130D	TT	AA	4/4
131D	TC	AG	4/4
132D	TC	AA	4/3
133D	TC	AA	4/3
134D	TT	AG	4/4
135D	TT	AA	4/3
136D	TT	AA	4/4
137D	TC	AG	4/4
138D	TT	AA	4/4
139D	TC	AG	4/4
140D	TT	AA	4/4
141D	TC	AG	4/4
142D	CC	GG	4/4
143D	TT	AA	4/4
144D	TC	AG	4/4
145D	TT	AG	4/4
146D	TC	AA	4/4
147D	TT	AA	4/4
148D	TC	AA	4/3
149D	TC	AG	4/3
150D	TT	AA	4/4
151D	TT	AA	4/4
152D	TT	AA	4/10
153D	TT	AA	4/4
154D	TC	AA	4/4

continuação

155D	TC	AA	4/4
156D	TT	AA	4/4
157D	TC	AA	4/4
158D	TT	AA	4/4
159D	TT	AG	4/4
160D	TT	AA	4/4
161D	TC	AG	4/4
162D	TC	AA	4/4
163D	TT	AA	4/4
164D	TT	AA	4/4
165D	TT	GG	4/4
166D	TT	AG	4/4
167D	TT	AA	4/4
168D	TT	AA	4/4
169D	TT	AA	4/4
170D	TT	AA	4/4
171D	TT	AA	4/4
172D	TT	AA	4/4
173D	TC	AG	4/3
174D	TC	AG	4/4
175D	TT	AA	4/10
176D	TT	AA	10/10
177D	TT	AA	4/10
178D	TT	AA	4/4
179D	CC	GG	4/4
180D	TC	AA	4/4
181D	TT	AA	4/10
182D	TC	AG	4/10
183D	TT	AG	4/10
184D	TT	AA	4/4
185D	TT	AA	10/10
186D	TC	AG	10/10

continuação

187D	TC	AG	4/4
188D	TC	AA	4/4
189D	TT	AA	4/10
190D	TT	AA	4/4
191D	TT	AA	4/3
192D	TT	AA	4/4
193D	TC	AA	3/10
194D	TC	AG	4/3
195D	TC	AA	4/10
196D	TT	AA	4/10
197D	TT	AA	4/3
198D	TT	AA	4/4
199D	TT	AA	4/3
200D	TT	AA	4/4
201D	TT	AA	4/4
202D	TT	AA	4/3
203D	TT	GG	4/3
204D	TT	AA	4/10
205D	TT	AA	4/3
206D	TT	AA	4/3
207D	TC	AG	3/10
208D	TC	AG	4/4
209D	TT	AG	4/4
210D	TC	AA	4/4
211D	TT	AA	4/10
212D	TC	AA	4/10
213D	TT	AA	4/3
214D	TT	AA	4/3
215D	TC	AA	4/3
216D	TT	AA	10/10
217D	TC	AA	10/10
218D	CC	AG	4/4

continuação

219D	TT	AA	4/4
220D	TT	AG	4/3
221D	TT	AA	4/4
222D	TT	AA	4/4
223D	TC	AA	4/10
224D	TT	AA	3/10
225D	TT	AA	3/10
226D	TT	AG	10/10
227D	TC	AA	4/4
228D	TT	AA	4/4
229D	TT	AG	4/4
230D	TT	AA	4/4
231D	CC	AG	4/3
232D	TC	AA	4/10
233D	TT	AG	4/4
234D	TC	AA	4/4
235D	TT	AA	4/10
236D	TT	AG	4/10
237D	TT	AA	4/3
238D	TC	AA	4/3
239D	TT	AA	10/10
240D	TC	AG	4/4
241D	TC	AA	4/3
242D	TC	AG	4/4
243D	TT	AA	4/4
244D	TC	AA	4/4
245D	TT	AA	4/4
246D	TT	AA	4/4
247D	TT	AA	4/3
248D	TC	GG	4/4
249D	TC	AG	4/4
250D	TC	AG	4/3

continuação

251D	TT	AA	4/4
252D	TT	AA	4/3
253D	TT	AA	4/3
254D	TT	AG	4/3
255D	TT	AA	4/3
256D	TT	AA	4/3
257D	NR	NR	NR

NR, não realizado, TT ausência do polimorfismo, TC polimorfismo em heterozigose, CC polimorfismo em heterozigose