

ÉRICA FURQUIM SOLEDADE NEVES SILVA

**POLIMORFISMOS DOS GENES *GSTM1* E *GSTT1*, DO SISTEMA DA
GLUTATIONA S-TRANSFERASE, E T6235C E A4889G DO GENE
CYP1A1, DO SISTEMA DO CITOCROMO P450, NA SUSCEPTIBILIDADE
AO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para
obtenção do Título de Mestre em Estomatopatologia.
Área de Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima

Co- orientadora: Maria Elvira Correa Pizzigatti

PIRACICABA

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Si38p

Silva, Érica Furquim Soledade Neves.

Polimorfismos dos genes *GSTM1* E *GSTT1*, do sistema da Glutathione S-Transferase, e T6235C e A4889G do gene *CYP1A1*, do sistema do Citocromo P450, na susceptibilidade ao carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. / Érica Furquim Soledade Neves Silva. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientador: Carmen Silvia Passos Lima.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Polimorfismo genético. I. Lima, Carmen Silvia Passos. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: *GSTM1* and *GSTT1* genes polymorphisms of Glutathione S-Transferase system, and T6235C and A4889G of *CYP1A1* gene, by Cytochrome P450 system, in head and neck squamous cell carcinoma susceptibility

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Polymorphism, genetic

Área de Concentração: Patologia

Titulação: Mestre em Estomatopatologia

Banca Examinadora: Carmen Silvia Passos Lima, Mirian Aparecida Onofre, Carmen Silvia Bertuzzo

Data da Defesa: 22-11-2007

Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 22 de Novembro de 2007, considerou a candidata ERICA FURQUIM SOLEDADE NEVES SII.VA aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "C. Passos Lima", is written over a horizontal line.

PROFa. DRa. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "M. Onofre", is written over a horizontal line.

PROFa. DRa. MIRIAN APARECIDA ONOFRE

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "C. Bertuzzo", is written over a horizontal line.

PROFa. DRa. CARMEN SILVIA BERTUZZO

Dedico este trabalho ao meu marido Carlos Maurício por todos os momentos de apoio, consideração e incentivo, além do companheirismo inestimável e dos conselhos preciosos e conhecimentos que me ajudaram nesta pesquisa.

À minha mãe Maria Angélica e ao meu pai Aleixo pelo exemplo de carácter, força, inteligência, coragem e trabalho, necessários a qualquer projeto de vida que se queira realizar com dignidade, pelo carinho constante, pela atenção incondicional, pela fé inabalável e fortaleza gigantesca, além do suporte emocional e técnico, e da grandeza de uma infinidade de coisas que nem saberia me lembrar, sem as quais jamais seria o que sou.

À minha irmã Thais e ao meu irmão Aleixo, por toda sua contribuição na área de informática e por me ensinarem o valor da palavra união e amizade e me encaminharem constantemente a ser alguém melhor.

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima**, pela participação ativa neste processo de aprendizagem, incentivando-me a ser capaz de caminhar rumo a evolução científica e material das coisas. Por todo apoio e direcionamento necessários a concretização deste projeto precioso para meu crescimento interior e contribuição à ciência. Por toda amizade e empenho em tentar-me fazer uma pessoa melhor, meu eterno agradecimento.

Ao **Prof. Dr. Jacks Jorge Junior**, pela oportunidade valiosa de trilhar o caminho da ciência, podendo aprimorar meus conhecimentos e vencer obstáculos, e tornar-me assim, mais fortalecida para vida. Pela atenção e dedicação prestimosas à qualquer questionamento, sempre podendo contar com seu apoio.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Diretor, o **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**.

Ao **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, Coordenador de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

À todos os professores das áreas de Patologia e Semiologia: **Profs. Drs. Oslei Paes de Almeida, Edgard Graner, Pablo Agustin Vargas, Ricardo Della Coletta, Márcio Ajudarte Lopes e Oswaldo Di Hipólito Jr.**, por todo o aprendizado recebido.e dedicação prestadas.

À **Prof. Dra. Maria Elvira Correa Pizzigatti** por toda amizade e consideração.

À **Dra. Regina Martinho Sagarra, Dr. Augusto Rinck Júnior e médicos residentes** da Disciplina de Oncologia Clínica, do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pela compreensão de aspectos relacionados à doença abordada no presente estudo.

À **Cláudia Zanon, Carlão, Carlos, Dona Maria, Jajá, Tânia, Uzete e toda a equipe de enfermagem** do Ambulatório de Oncologia do Hospital das Clínicas da

Universidade Estadual de Campinas, pela colaboração na obtenção das amostras de pacientes e coleta de sangue dos mesmos.

À **Fabi, ao Rodrigo e à Bel**, da secretaria do ambulatório de Oncologia, e à **Gina**, da assistência social, pela amizade e torcida.

Ao **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**, por ceder a infra-estrutura laboratorial necessária ao projeto.

À **Hélvia**, à **Manoela**, ao **Gustavo**, à **Gabi**, ao **Sandro**, e a todo pessoal do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas, pela colaboração, amizade e ajuda para a realização das genotipagens de pacientes e controles necessários ao desenvolvimento do meu trabalho.

Às **meninas** do laboratório de Citogenética do Hemocentro, pelo apoio e amizade.

Aos queridos colegas de Pós-Graduação: **Kênia Regina Silva, Marco Antônio Carvalho, Michele Kellerman, Lays Sobral, Rebeca Azevedo, Marcelo Rodrigues, Jorge Esquiche Leon, Guilherme Martinez Mata, Fábio Ornellas Prado, Patrícia Abrahão, Lília Alves Rocha, Ana Carolina de Mesquita, Andréia Aparecida da Silva, Lucielma Salmito, Dawton Pulhez, Ademar Takahama, Eduardo Baulm e Ana Lúcia Rangel**, por todos os momentos divertidos que vivemos juntos e toda companhia que compartilhamos nestes anos.

Aos queridos amigos **Cláudia Duarte, Luciana Okajima, Ricardo Schiavuzzo, Sheila Arantes e Alex**, pelo enorme incentivo e por compartilharem comigo de todas as minhas dúvidas e experiências acadêmicas.

À todos os **pacientes e seus familiares**, imprescindíveis a qualquer pesquisa clínica que preze pelo desenvolvimento científico, pelo exemplo de coragem, bondade, compreensão e colaboração prestadas, mesmo em seus momentos mais difíceis de hospitalização, sem os quais este projeto jamais seria possível.

A todas as pessoas que participaram, contribuindo para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente, meu agradecimento.

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Projeto CNPq nº 401310/2005-1) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Projeto FAPESP nº 2006/01710-8)

“Todo conhecimento inicia-se na imaginação, no sonho; só depois desce à realidade material e terrena por meio da lógica”

Albert Einstein

RESUMO

As glutathione S-transferases (GSTs) são enzimas detoxificantes que atuam no mecanismo de proteção contra a carcinogênese. Os genes *GSTM1* e o *GSTT1* são polimórficos em humanos e estão deletados de forma homozigótica em 40-50% e 15-25% dos indivíduos de diferentes populações étnicas, respectivamente. Os polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* estão também associados ao metabolismo de carcinógenos e as formas variantes CC e GG são identificadas em 5-20% e 5% dos indivíduos de diferentes populações étnicas. O objetivo deste estudo é avaliar se os polimorfismos destes genes influenciam o risco de ocorrência do carcinoma epidermóide (CEC) de cabeça e pescoço ou se estão associados com os aspectos clínicos dos pacientes com a doença. Para tanto, foram avaliados 142 pacientes com CEC de cabeça e pescoço e 142 controles. A genotipagem foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (multiplex-PCR) e PCR e digestão enzimática, respectivamente. O significado estatístico das diferenças entre grupos foi calculado por meio do teste da probabilidade exata de Fisher. As determinações dos riscos de ocorrência do CEC, foram obtidas por meio das razões das chances (ORs) considerando um intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Não foram observadas diferenças entre as frequências da deleção homozigótica dos genes *GSTM1* (40,8% versus 46,5%; $P= 0,16$) e *GSTT1* (25,3% versus 20,4%; $P= 0,94$) em pacientes e controles. Entretanto a frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com tumor dos estádios I a III foi menor do que a observada em pacientes com tumores do estágio IV (20,4% versus 51,8%; $P= 0,002$). A frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com os estádios I a III do tumor foi também menor do que a observada em controles (20,4% versus 46,5%; $P= 0,0008$). As frequências combinadas dos genótipos TC + CC do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* foram similares em pacientes e controles (36,6% versus 33,8%; $P= 0,85$). Em contraste, a frequência combinada dos genótipos TC + CC em pacientes com tumor de laringe foi menor do que a observada em pacientes com tumores de outras localizações (21,6% versus 41,9%; $P= 0,03$). Já as frequências combinadas dos genótipos AG + GG do polimorfismo

A4889G do gene *CYP1A1* foram similares em pacientes e controles (33,8% *versus* 28,2%; $P= 0,71$) e em pacientes estratificados por aspectos clínicos, anátomo-patológicos e biológicos do tumor. Os resultados deste estudo, em seu conjunto, sugerem que a presença dos genes *GSTM1* parecem proteger indivíduos da ocorrência do CEC mais localizado de cabeça e pescoço, enquanto que a deleção homozigótica do gene *GSTM1* parece atuar na agressividade do tumor em nossos casos. Os genótipos variantes TC + CC do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* parecem proteger indivíduos de nossa região do câncer de laringe. Já os genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* parecem não influenciar o risco de ocorrência da doença ou de suas manifestações clínicas, bem como as características anátomo-patológicas e biológicas do tumor em nossos casos.

Palavras chave: Carcinoma de cabeça e pescoço, susceptibilidade, *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1*, polimorfismo gênico

ABSTRACT

The glutathione S-transferases (GSTs) are metabolic enzymes involved in carcinogenic detoxification. *GSTM1* and *GSTT1* polymorphic genes are deleted in humans and null genotypes frequencies are different in several ethnic groups; 40-50% and 15-25% of different population, respectively. Genetic *CYP1A1* polymorphisms T6235C and A4889G are also associated to carcinogenic metabolism and variant genotypes CC and GG are identified in 5-20% and 5% of individuals at several ethnic groups. It's unclear if these genetic polymorphisms influence head and neck epidermoide carcinoma (CEC) risk, or its association with patients stratified by clinical features. Therefore, 142 patients diagnosed with head and neck cancer and 142 control subjects were evaluated. Genotyping was performed by using polymerase chain reaction (multiplex-PCR) and PCR and subsequent restriction enzyme digestion, respectively. The different statistical significances between groups, was calculated by using the Fisher exact test or Chi ² test. Crude odds ratios (ORs) were calculated and are given with the 95% confidence intervals (IC). There were no difference frequencies statistically significant of *GSTM1* null genotype (40,8% versus 46,5%; *P*= 0,16) neither *GSTT1* null genotype (25,3% versus 20,4%; *P*= 0,94) between patients and controls. However, the homozygous deletion of the *GSTM1* gene in patients with tumors of stages I to III was lower than that seem in patients with advanced (stage IV) tumors (20,4% versus 51,8%; *P*= 0,002). The homozygous deletion of the *GSTM1* gene was also less common in stage I to III patients than in controls (20,4% versus 46,5%; *P*= 0,0008). The frequencies of the combined variant genotypes TC + CC of the *CYP1A1* T6235C polymorphism were similar in patients and controls (36,6% versus 33,8%; *P*= 0,85). In contrast, the combined genotype TC + CC in patients with tumor of larynx was lower than that observed in patients with other tumors (21,6% versus 41,9%; *P*= 0,03). The frequencies of the combined variant genotypes AG + GG of the *CYP1A1* A4889G polymorphism were similar in patients and controls (33,8% versus 28,2%; *P*= 0,71) and in patients stratified by clinical features, and anatomo-pathological and biological aspects of

the tumor. In summary, the results of this study suggest that the presence of the *GSTM1* genes seems to protect individuals against localized tumors, while the homozygous deletion of the *GSTM1* gene seems to be associated to the aggressiveness of the tumor; the variant genotypes TC + CC of the *CYP1A1* T6235C polymorphism seem to protect individuals against larynx cancer; and the genotypes of the *CYP1A1* A4889G polymorphism seem do not influence the risk for head and neck tumor, as well as the clinical features of the disease, and anatomic-pathological and biological aspects of the tumor in our cases.

Key words: Head and neck carcinoma, susceptibility, *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1*, genetic polymorphism

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Alelo selvagem do polimorfismo <i>CYP1A1</i> A4889G
Ah	Aril-hidrocarbono
A4889G	Polimorfismo do gene <i>CYP1A1</i>
C	Alelo variante do polimorfismo <i>CYP1A1</i> T6235C
CEC	Carcinoma de células escamosas
<i>CYP1A1</i>	Gene do sistema do citocromo P450
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FOSP	Fundação Oncocentro de São Paulo
G	Alelo variante do polimorfismo <i>CYP1A1</i> A4889G
GST	Glutathione S-transferase
<i>GSTM1</i>	Gene glutathione S-transferase Mu 1
<i>GSTT1</i>	Gene glutathione S-transferase Theta 1
HPA	Hidrocarboneto aromático policíclico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
Ile	Isoleucina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
OR	Razão das chances
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pb	Pares de bases
rpm	Rotações por minuto
T	Alelo selvagem do polimorfismo <i>CYP1A1</i> T6235C
T6235C	Polimorfismo do gene <i>CYP1A1</i>
Val	Valina

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com a idade, o sexo e a raça	19
Tabela 2 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com o hábito de fumar, de ingerir bebidas alcoólicas e o padrão alimentar	20
Tabela 3 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com a localização, a diferenciação e o estágio do tumor	22
Tabela 4 – Frequências dos genótipos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles	28
Tabela 5 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça	31
Tabela 6 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por hábito de fumar e ingerir bebidas alcólicas	32
Tabela 7 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelo padrão da dieta	33
Tabela 8 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor ...	36

Tabela 9 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles	38
Tabela 10 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça	40
Tabela 11 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por hábito de fumar, de ingerir bebidas alcóolicas e padrão da dieta	41
Tabela 12 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelos aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	43
Tabela 13 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles	45
Tabela 14 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça	47
Tabela 15 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelo hábito de fumar, de ingerir bebidas alcóolicas e padrão da dieta	48
Tabela 16 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelos aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Lesão de palato duro representando um carcinoma de células escamosas da cavidade oral de paciente inserido no estudo	24
Figura 2 – Carcinoma de células escamosas do palato duro com a presença do papilomavírus humano	26
Figura 3 – Genótipos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> , do sistema da glutathione S-transferase, em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em controles do estudo	30
Figura 4 – Genótipos do polimorfismo T6235C do gene <i>CYP1A1</i> , do sistema do citocromo P450, em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em controles do estudo	39
Figura 5 – Genótipos do polimorfismo A4889G do gene <i>CYP1A1</i> , do sistema do citocromo P450, em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em controles do estudo	46

SUMÁRIO

	Pág
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Aspectos clínicos	3
2.2 Aspectos ambientais	4
2.3 Aspectos genéticos	5
3 PROPOSIÇÃO	9
4 MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1 Avaliação clínica	11
4.2 Análise molecular dos genes <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> e <i>CYP1A1</i>	13
4.2.1 Extração do DNA a partir dos leucócitos	13
4.2.2 Identificação dos genótipos dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>	14
4.2.3 Identificação dos genótipos do gene <i>CYP1A1</i>	15
4.3 Aspectos éticos	17
4.4 Análise estatística	18

5 RESULTADOS	19
5.1 Aspectos clínicos	19
5.2 Análise molecular dos genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>	27
5.2.1 Genótipos em pacientes e controles	27
5.2.2 Genótipos em pacientes e aspectos clínicos	31
5.2.3 Genótipos em pacientes e aspectos do tumor	35
5.3 Análise molecular do gene <i>CYP1A1</i>	37
5.3.1 Genótipos do polimorfismo T6235 em pacientes e controles	37
5.3.2 Genótipos do polimorfismo T6235C em pacientes e aspectos clínicos	40
5.3.3 Genótipos do polimorfismo T6235C em pacientes e aspectos do tumor ...	42
5.3.4 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes e controles	44
5.3.5 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes e aspectos clínicos	47
5.3.6 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes e aspectos do tumor ...	49
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	85

1 INTRODUÇÃO

Os cânceres de cabeça e pescoço são tumores de tecido mole que surgem predominantemente nas superfícies mucosas dos lábios, cavidade oral, faringe e laringe (Holland *et al.*, 2003).

O número estimado de casos novos de câncer de cabeça e pescoço nos Estados Unidos, em 2003, foi de 37.200 casos. Estes representaram cerca de 3% do total de casos novos de câncer, excluindo os de pele, para o país naquele ano (Jemal *et al.*, 2003).

Os dados epidemiológicos do câncer de cabeça e pescoço não são totalmente conhecidos no Brasil. Entretanto, segundo estimativas de incidência de câncer, obtidas em endereços eletrônicos disponibilizados para dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (Brasil, Ministério da Saúde 2005), foram previstos 13.470 novos casos do câncer de cavidade oral para o ano de 2006 no país, dentre os quais 4.330 casos ocorreriam no estado de São Paulo. Ainda, o Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) funciona como referência para o atendimento médico de casos complexos da chamada macrorregião de Campinas, com 90 municípios e seis milhões de habitantes. Foi estimada por profissionais da Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP) (São Paulo, Secretaria da Saúde 2005), a ocorrência de 710 casos novos de câncer da cavidade oral em 5.510 casos novos de câncer, excluindo os de pele, para a região no ano de 2006, o que representaria cerca de 13% do total de casos. Estes dados indicaram que os tumores de cabeça e pescoço parecem frequentes em nossa região.

O câncer de cabeça e pescoço é determinado por fatores ambientais e genéticos.

Entre os fatores ambientais considerados predisponentes para a ocorrência da doença, merecem destaque os hábitos de fumar e de ingerir bebidas alcoólicas e a ingestão habitual de carnes assadas e alimentos gordurosos (Wunsch, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Sidransky, 2005; Golas, 2007; Hashibe *et al.*, 2007). Em contraste, a ingestão de frutas e vegetais frescos, que contém vitaminas A, C e beta carotenos, parece atuar como fator de proteção contra a ocorrência de neoplasias epiteliais (Maserejian *et al.*, 2006; Vecchia *et al.*, 1997). O papilomavírus humano (HPV), particularmente o HPV-16, foi identificado em aproximadamente 25% dos carcinomas de cabeça e pescoço (Sidransky, 2005). Já os

poluentes do ar, como a fumaça dos carros por combustão de material orgânico, a exaustão de motores a diesel ou gasolina e os processos industriais, como a produção de alumínio e a gaseificação do coque, promovem a liberação de carcinógenos, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), e parecem associados à ocorrência do câncer de cabeça e pescoço (Pereira *et al.*, 2000).

Por outro lado, a ativação de proto-oncogenes, como o *RAS* e o *CCND1* e a perda de função dos supressores tumorais *P53* e *P16* estão associadas com a origem do câncer de cabeça e pescoço (Sydransky, 2005). Ainda, alguns genes que atuam no metabolismo de carcinógenos ambientais, como o *GSTM1* e o *GSTT1*, do sistema da glutathione S-transferase, e o *CYP1A1*, do sistema do citocromo P450, também parecem participar da carcinogênese da doença. Estes genes são polimórficos em humanos e seus genótipos distintos foram identificados com frequências variáveis em indivíduos saudáveis de diferentes populações étnicas (Hayes & Pulford, 1995; Masson *et al.*, 2005; Gattás *et al.*, 2006). Os genótipos variantes pareceram alterar o risco de ocorrência dos tumores de cabeça e pescoço em alguns estudos (Kato *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 1999; Hanna *et al.*, 2001; Shama *et al.*, 2002; Amador *et al.*, 2002; Hashibe *et al.*, 2003; Gajecka *et al.*, 2005; Malgorzata *et al.*, 2005; Bolt & Thier, 2006; Gattás *et al.*, 2006), mas não em outros (Tanimoto *et al.*, 1999; McWilliams *et al.*, 2000; Figueras *et al.*, 2002; Hahn *et al.*, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Unal *et al.*, 2004; Biselli *et al.*, 2006; Cha *et al.*, 2007).

Outro aspecto de interesse na doença é a sobrevida de seus portadores. Cerca de 60-80% dos pacientes com tumores iniciais (estádios 0, I e II) e menos de 30% daqueles com tumores avançados (estádios III e IV) sobrevivem por cinco anos ou mais que cinco anos (Holland *et al.*, 2003; Mendenhall *et al.*, 2005).

A alta incidência de tumores de cabeça e pescoço em países em desenvolvimento, a possível influência de genes que atuam no metabolismo de carcinógenos e cujos genótipos variam em indivíduos de diferentes etnias e, ainda, as alarmantes reduzidas taxas de sobrevida daqueles com doença avançada, justificam a busca de maior conhecimento sobre a etiologia e a fisiopatologia da doença em nossa população.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos clínicos

O câncer de cabeça e pescoço usualmente se apresenta como um conjunto de sinais e sintomas que incluem lesões de cavidade oral, o aumento de volume da região cervical, a dificuldade de ingestão de alimentos, a rouquidão, o sangramento e a dor no local do tumor ou de suas extensões (Holland *et al.*, 2003; Mendenhall *et al.*, 2005).

A incidência da doença aumenta com a idade, à semelhança das demais neoplasias (Bernardi *et al.*, 2005; Mendenhall *et al.*, 2005). Acomete indivíduos com idade maior do que 40 anos, sendo que a maioria dos casos é identificada em indivíduos com idade maior do que 50 anos (Mehrotra *et al.*, 2003; Bernardi *et al.*, 2005; Mendenhall *et al.*, 2005). Acomete mais frequentemente homens do que mulheres, que guardam entre si uma relação de 5:2 (Brennan *et al.*, 2004; Mendenhall *et al.*, 2005).

O tipo histopatológico mais comum é o carcinoma de células escamosas (CEC), identificado em cerca de 90-95% dos casos da doença (Brennan *et al.*, 2004). Este é usualmente classificado de acordo com o grau de diferenciação de suas células em indiferenciado, pouco diferenciado, moderadamente diferenciado e bem diferenciado (Mori *et al.*, 1998). O prognóstico dos pacientes com CEC de cabeça e pescoço varia com o grau de diferenciação do tumor, sendo que sobrevidas curtas foram associadas a tumores indiferenciados ou pouco diferenciados (Costa *et al.*, 2005). Um outro fator com significado prognóstico para pacientes com CEC de cabeça e pescoço é a extensão de acometimento do tumor. Esta é usualmente avaliada pelo sistema TNM, com base nas normas do *American Joint Committee on Cancer* (Greene *et al.*, 2004). O sistema TNM considera a extensão de acometimento local do tumor (T) e a presença ou a ausência de metástases para linfonodos (N) e para regiões distantes. Cinco grupos de pacientes são identificados (estádios 0, I, II, III e IV), sendo que as menores probabilidades de sobrevivência foram observadas em pacientes com a forma avançada da doença (estádios III e IV) (Mori *et al.*, 1998; Costa *et al.*, 2005). De fato, quando o diagnóstico é precoce, o tratamento cirúrgico radical ou a radioterapia oferecerem sobrevida de cinco anos para a maior parte dos pacientes (Lang *et al.*, 2004; Mendenhall *et al.*, 2005; Yukako *et al.*, 2005).

Entretanto, em geral, estes chegam aos hospitais de referência com doença avançada, o que torna seus prognósticos reservados, mesmo quando adequadamente tratados (Neville *et al.*, 1998; Mendenhall *et al.*, 2005; O'Sullivan, 2005).

2.2 Aspectos ambientais

Os aspectos ambientais são de grande importância para a origem da doença. Indivíduos com os hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas tiveram maior probabilidade de desenvolver CEC de cabeça e pescoço do que os demais (Wunsch, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Mendenhall *et al.*, 2005; Hashibe *et al.*, 2007; Golas, 2007).

Os tabagistas, por contato com os HPAs e as nitrosaminas do tabaco e sua fumaça, estiveram sob risco quatro a 15 vezes maior de câncer da boca que os não tabagistas (Kowalski *et al.*, 2006). Já o risco de câncer da boca, em etilistas, foi nove vezes maior do que o risco da doença naqueles que não ingeriram bebidas alcoólicas (Kowalski *et al.*, 2006). O efeito do álcool na carcinogênese foi atribuído a um de seus metabólitos, o acetaldeído, que causou mutações no DNA de células com as quais entrou em contato (Gallegos-Hernandez, 2006). Ainda, risco 35 vezes maior de câncer da boca foi observado em indivíduos que fumaram e ingeriram bebidas alcoólicas, quando comparados a indivíduos sem estes vícios (Abbas *et al.*, 2004; Durazzo *et al.*, 2005; Kowalski *et al.*, 2006), indicando que tabaco e álcool agem de forma sinérgica na origem dos tumores.

O padrão da dieta parece contribuir para a ocorrência da doença, sendo que o risco ao CEC de cabeça e pescoço foi descrito como inversamente proporcional à ingestão de vegetais e frutas frescas (Brasil, Ministério da Saúde 2006). Alto risco de CEC de faringe foi observado em indivíduos com a síndrome de Plummer-Vinson e carência de ferro. A possível explicação para o fato é a de o ferro é fundamental para a imunidade celular e o funcionamento normal das células epiteliais do trato digestivo superior (Neville *et al.*, 1998). Ainda, o cozimento de carnes a elevadas temperaturas produz HPAs e sua ingestão foi descrita como fator de predisposição à doença (Brennan *et al.*, 2004; Ray, 2005).

2.3 Aspectos genéticos

Anormalidades genéticas também contribuem de forma fundamental para o CEC de cabeça e pescoço. A ativação de proto-oncogenes, como o *RAS*, o *CCND1* e o *BCL-2*, a perda de função dos supressores tumorais *P53* e *P16*, bem como a instabilidade de microsátélites, parecem estar associadas à ocorrência do câncer de cabeça e pescoço (Wang et al., 2002; Mathias et al., 2003; Ronchetti et al., 2004; Sydransky, 2005). Entretanto, não foram ainda identificadas anormalidades gênicas recorrentes, que caracterizem estes tumores.

As glutathione S-transferases (GSTs) constituem uma família de enzimas detoxificantes do mecanismo de proteção contra a carcinogênese química (Hayes & Pulford, 1995). Estas enzimas catalisam a conjugação de moléculas eletrofílicas de carcinógenos à glutathione reduzindo-os a produtos menos tóxicos (Hayes & Pulford, 1995).

As concentrações das GSTs são reguladas por elementos da dieta e pelo hábito de fumar (Slaterry et al., 2000). Alguns vegetais crucíferos, como o brócolis e a couve de bruxelas (Lin et al., 1998), e o café (Slaterry et al., 2000) foram descritos como indutores da produção das GSTs ou ativadores destas enzimas. O tabagismo também foi descrito como um indutor da produção das GSTs (Slaterry et al., 2000). Este poderia constituir o seu efeito benéfico, pois altos níveis de GSTs parecem necessários para fumantes, para a detoxificação dos carcinógenos provenientes do cigarro (Slaterry et al., 2000).

As concentrações das GSTs são também reguladas por variantes hereditárias dos genes que as codificam (Slaterry et al., 2000). Cinco classes de genes codificam estas proteínas em humanos: alpha, mu, pi, sigma e theta (Hayes & Pulford, 1995).

O gene *GSTM1*, da classe mu, contém oito éxons e está localizado no braço curto do cromossomo 1, na região 1p13. Já o gene *GSTT1*, da classe theta, contém cinco éxons e está localizado no braço longo do cromossomo 22, na região 22q11. Os genes *GSTM1* e *GSTT1* são polimórficos em humanos (Hayes et al., 2005) e estão ausentes ou deletados de forma homozigótica em 40-50% e 15-25% dos indivíduos de diferentes populações étnicas, respectivamente (Hayes & Pulford, 1995; Nelson et al., 1995; Arruda et al., 1998). Assim, hipoteticamente, indivíduos com a deleção homozigótica destes genes

parecem mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças atribuídas à exposição a carcinógenos.

Os resultados de estudos epidemiológicos prévios indicaram a associação da deleção homozigótica do gene *GSTM1* ao aumento do risco de CEC de cabeça e pescoço em alguns estudos (Kato *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 1999; Hanna *et al.*, 2001; Shama *et al.*, 2002; Hashibe *et al.*, 2003; Gajicka *et al.*, 2005; Malgorzata *et al.*, 2005; Bendjemana *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006), mas, não houve associação deste genótipo com a doença em outros estudos (Tanimoto *et al.*, 1999; McWilliams *et al.*, 2000; Figueras *et al.*, 2002; Hahn *et al.*, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Evans *et al.*, 2004; Unal *et al.*, 2004; Biselli *et al.*, 2006; Sugimura *et al.*, 2006; Cha *et al.*, 2007). De forma semelhante, a influência da deleção do gene *GSTT1* em CEC de cabeça e pescoço foi também controversa (Kato *et al.*, 1999; McWilliams *et al.*, 2000; Hanna *et al.*, 2001; Shama *et al.*, 2002; Evans *et al.*, 2004; Xie *et al.*, 2004; Canalle *et al.*, 2004; Malgorzata *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005; Biselli *et al.*, 2006; Minardi *et al.*, 2006; Sugimura *et al.*, 2006). Ainda, não foi definido se as deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* estão associadas com variáveis clínico-patológicas de pacientes com CEC de cabeça e pescoço, como a idade de manifestação da doença, o sexo, a raça, o tabagismo, o etilismo, o padrão da dieta, a localização, o grau de diferenciação do tumor e a extensão de acometimento do mesmo (Cabelguenne *et al.*, 2001; Unal *et al.*, 2004; Gaudet *et al.*, 2004; Leichsenring, 2005).

A *CYP1A1* pertence à família das enzimas do sistema do citocromo P450, produzidas predominantemente por hepatócitos (Miyamoto *et al.*, 2005). Conhecida como enzima de fase I, a *CYP1A1* atua na bioativação de vários agentes químicos, incluindo os HPAs. Com a oxidação destes carcinógenos, há produção de substâncias intermediárias extremamente reativas, e portanto, mais tóxicas para as células de tecidos diversos (Bowen *et al.*, 2003). Estas, entretanto, podem ser transformadas em compostos solúveis em água, pelas enzimas de fase II (*GSTs*). Estes compostos podem ser excretados pelo organismo, terminando assim o processo de desintoxicação (Canalle *et al.*, 2004).

Um polimorfismo, o T6235C ou M1, na posição 6235 da cadeia de DNA do gene determina a substituição de timina por citosina. Essa substituição cria um sítio de

restrição para a enzima *MspI*, na região não-codificada da extremidade 3' do gene (D'aló *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2004), que possibilita a diferenciação dos alelos selvagem e variante. O alelo variante C codifica uma enzima mais eficaz na ativação de carcinógenos (Cascorbi *et al.*, 1996; Hahn *et al.*, 2002; Gattás *et al.*, 2006). O genótipo variante CC, em homozigose, foi observado em 5% a 20% dos indivíduos de diferentes populações étnicas (Duell *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003; Canalle *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2004).

Frequências maiores do genótipo variante CC foram observadas em pacientes com CEC de cabeça e pescoço quando comparados a indivíduos saudáveis em alguns estudos (Sato *et al.*, 1999; Tanimoto *et al.*, 1999; Varzim *et al.*, 2003; Gajecka *et al.*, 2005), mas, não em outros (Brennan *et al.*, 2004; Malgorzata *et al.*, 2005; Sugimura *et al.*, 2006).

Um outro polimorfismo, o A4889G ou M2, determina a troca de adenina por guanina na posição 4889 do éxon 7 do gene, com a conseqüente substituição da isoleucina (Ile) por valina (Val) na proteína codificada (Persson *et al.*, 1997; D'aló *et al.*, 2004). O alelo variante G, determina a produção de enzima mais eficaz na ativação de carcinógenos (Persson *et al.*, 1997; Cascorbi *et al.*, 1996; Hahn *et al.*, 2002; Masson *et al.*, 2005). O genótipo variante GG, em homozigose, foi identificado em cerca de 5% dos indivíduos de diferentes populações étnicas (Quiñones *et al.*, 2001; Duell *et al.*, 2002; Hashibe *et al.*, 2003; D'aló *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2004; Masson *et al.*, 2005; Seremak *et al.*, 2005).

Frequências maiores do genótipo variante GG foram observadas em pacientes com CEC de cabeça e pescoço, quando comparados a indivíduos saudáveis em alguns estudos (Tanimoto *et al.*, 1999; Sreelekha *et al.*, 2001; Kao *et al.*, 2002; Cha *et al.*, 2007). Entretanto, frequências similares do genótipo foram identificadas nos dois grupos de indivíduos em outros estudos (McWilliams *et al.*, 2000; Hahn *et al.*, 2002; Xie *et al.*, 2004; Leichsenring *et al.*, 2005).

Dois estudos foram conduzidos para verificar as influências dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1* no risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço no estado de São Paulo (Gattás *et al.*, 2006; Biselli *et al.*, 2006) e resultados contraditórios foram obtidos. Ainda, os autores não avaliaram as influências dos genes na doença, em indivíduos com distintos padrões da dieta e com distintas aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor.

O câncer é a segunda causa de óbito na região sudeste do Brasil (Duncan *et al.*, 1992) e os tumores de cabeça e pescoço parecem freqüentes em nossa região (São Paulo, Secretaria da Saúde 2005). Por outro lado, o tabagismo e o etilismo constituem problemas importantes na saúde de indivíduos da nossa população (Brasil, Ministério da Saúde 2006). Ainda, a população brasileira é altamente heterogênea, composta por indígenas e imigrantes da Europa, Ásia e África (Arruda *et al.*, 1998; Alves *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2001) e os papéis dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1* não foram completamente estabelecidos em indivíduos do estado de São Paulo.

Frente ao exposto, nos pareceu de interesse avaliar as freqüências dos polimorfismos gênicos em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e indivíduos saudáveis de nossa região.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar pacientes com CEC de cabeça e pescoço, atendidos no Hospital das Clínicas, e um grupo de indivíduos normais, doadores de sangue do Hemocentro da UNICAMP, tendo como objetivos:

- Verificar se as deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, do sistema da glutathione S-transferase, influenciaram o risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço;
- Verificar se as deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* estiveram associadas à idade, ao sexo, à raça, aos hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas e ao padrão alimentar de pacientes e à localização, ao grau de diferenciação e ao estágio do tumor;
- Verificar se os polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1*, do sistema do citocromo P450, influenciaram o risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço e,
- Verificar se os polimorfismos T6235C e A4889G estiveram associados à idade, ao sexo, à raça, aos hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas e ao padrão alimentar dos pacientes e à localização, ao grau de diferenciação e ao estágio do tumor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 142 pacientes com CEC de cabeça e pescoço atendidos por ocasião do diagnóstico ou durante o seguimento clínico, no ambulatório de Oncologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Foram excluídos da casuística os pacientes com outros tipos histológicos de tumor que não o CEC e os que não aceitaram participar do estudo proposto.

Foi estudado também um grupo controle, constituído por 142 doadores de sangue atendidos no Hemocentro da UNICAMP, pareados por idade, sexo, etnia e hábito de fumar aos pacientes, e que não referiram perda de peso ou CEC de cabeça e pescoço.

O tamanho amostral do estudo, 100 pacientes com CEC de cabeça e pescoço e 100 controles, foi calculado com base nas frequências gênicas descritas para indivíduos normais dos estados de São Paulo (Biselli *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006) e Minas Gerais (Duarte *et al.*, 2006), de acordo com as normas definidas por Beiguelman (1995).

4.1 Avaliação clínica

Os dados relativos à identificação, à idade, ao sexo, à etnia, ao hábito de fumar, ao etilismo e ao padrão da dieta, foram obtidos por meio de questionários específicos em pacientes, pela própria pesquisadora responsável pelo estudo. Estes foram distribuídos de acordo com a idade, o sexo, a etnia, o hábito de fumar, o etilismo e o padrão alimentar.

Os dados relativos à identificação, à idade, ao sexo, à raça e ao hábito de fumar foram também obtidos por meio de questionários específicos em controles. Estes foram distribuídos de acordo com a idade, o sexo, a raça e o hábito de fumar.

Foram considerados tabagistas os pacientes que mantiverem o hábito de fumar até o momento do diagnóstico do CEC de cabeça e pescoço. 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 CEC de cabeça e pescoço, de acordo com o proposto por Freedman *et al.* (1996). Os hábitos de consumo de tabaco foram classificados como discretos, menos de dez cigarros consumidos ao dia por menos de dez anos, ou acentuado, 30 ou mais cigarros consumidos ao dia por 30 anos ou mais, ou o

hábito de fumar charuto ou cachimbo no mesmo período. Foi considerado como tabagismo moderado, o consumo situado em qualquer outro tipo distinto dos descritos (Huang *et al.*, 2003). Os controles foram considerados apenas como tabagistas ou não tabagistas, se fumavam ou não fumavam no momento da doação de sangue.

Foram considerados usuários de bebidas alcoólicas aqueles que ingeriam algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana de forma regular. O hábito foi classificado como discreto, quando havia ingestão de uma até sete doses de bebida alcoólica por semana. Foi considerado moderado, quando havia ingestão de oito até 42 doses por semana e acentuado, quando havia ingestão de 43 doses ou mais por semana. Os demais casos, foram classificados como não usuários de bebidas alcoólicas, de acordo com os critérios estabelecidos por Huang *et al.* (2003). Vale comentar que foi considerado como um drinque o equivalente à 355 ml de cerveja ou 148 ml de vinho ou ainda 44 ml de bebida destilada, de acordo com padrão estabelecido pelo U.S. Department of Agriculture (USDA) e U.S. Department of Health and Human Services (USDHHS) (National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism-NIAAA, 1995).

O padrão da dieta foi investigado por meio de questionário específico (Anexo 1), aplicado aos pacientes pela própria pesquisadora responsável pelo estudo. Foram considerados particularmente os alimentos considerados predisponentes e protetores para o desenvolvimento de câncer (Brasil, Ministério da Saúde 2006). A classificação dos pacientes como pertencentes a grupos com ingestão adequada ou inadequada de carnes, frutas, verduras, legumes e leguminosas teve como base a recomendação do Ministério da Saúde e Agricultura (Brasil, Ministério da Saúde 1997).

Os pacientes foram distribuídos de acordo com a idade, o sexo, a raça, os hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas e o padrão da dieta. Os controles foram distribuídos apenas por idade, sexo, raça e hábito de fumar.

Os resultados dos exames laboratoriais necessários ao diagnóstico, à determinação do tipo histológico, grau de diferenciação, localização e do estágio do tumor, foram obtidos dos prontuários de cada paciente.

O diagnóstico do CEC de cabeça e pescoço foi realizado em cortes histológicos de fragmentos do tumor incluídos em parafina e corados por hematoxilina e eosina. Cada

tumor foi classificado de acordo com o grau de diferenciação: bem diferenciado, moderadamente diferenciado, pouco diferenciado e indiferenciado (Mori *et al.*, 1998).

Foi considerada a localização do CEC de cabeça e pescoço descrita no exame anátomo-patológico e classificada em quatro diferentes subgrupos: cavidade oral e lábios, faringe, laringe e cavidade nasal e seios paranasais. O estágio do tumor foi determinado com base nos resultados obtidos do exame clínico, da tomografia computadorizada do pescoço e do raio X de tórax, de acordo com o proposto pelo *American Joint Committee on Cancer* (Greene *et al.*, 2004) (Anexos 2 ao 24).

Os pacientes foram distribuídos de acordo com a localização, o grau de diferenciação e o estágio do tumor.

4.2 Análise molecular dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1*

4.2.1 Extração do DNA a partir dos leucócitos

O método utilizado para a extração do DNA foi o descrito por Woodhead *et al.* (1986), com modificações. De forma sucinta, foram colhidos 10 ml de sangue periférico de cada paciente e controle, em frasco estéril com anticoagulante, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Os frascos foram rotulados e enviados para o Laboratório de Citogenética Convencional e Molecular do Hemocentro, onde os materiais permaneceram armazenados a 4°C até o processamento.

A amostra descongelada foi centrifugada a 1300 rpm por dez minutos. Após o descarte do plasma, 500 µl dos eritrócitos 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%. A seguir, o botão de células obtidos foi ressuspensão em uma mistura de Tris HCl pH 7,5, EDTA 10 mM, NaCl 10 mM e dodecil sulfato sódio (SDS) 20%, compondo um tampão de digestão de proteínas, juntamente com a proteinase K 20 mg/ml e levado ao banho-maria a 55°C por duas horas. Em seguida, foram adicionados 200 µl de cloreto de lítio e levado ao freezer a – 20°C durante 15 minutos. Após, foi retirado do freezer e centrifugado por dez minutos a 1300 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro tubo

cônico de 1,5 ml. A seguir, o DNA foi precipitado em etanol absoluto, re-hidratado em álcool 70% e diluído em água estéril a 37° C.

4.2.2 Identificação dos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*

Os éxons 4 e 5 do gene *GSTM1* e o éxon 4 e o íntron 4 e do gene *GSTT1* foram amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Um fragmento do gene da globina beta, incluindo o éxon 3 e a seqüência dos íntrons 2 e 3, foi amplificado na mesma reação e serviu como controle da amostra de DNA (Saiki *et al.*, 1988). A PCR multiplex foi realizada com a utilização de uma mistura de 5 µl de tampão (10 mM de Tris-HCL, pH 8,4 e 50 mM de KCl), 2,5 µl de 3,0 mM de MgCl₂, 1,0 µl da mistura de nucleosídeos trifosfatos-dNTPs (0,4 mM de cada nucleosídeo trifosfato), 0,5µl de cada iniciador: *GSTM1* direto (5'-CTGC CCTACTTGATTG-ATGGG-3') e reverso (5'-CTGG-ATTGTAGCAGATCATGC-3'), *GSTT1* direto (5'-TTC-CTTACTGGTCCTCACATCTC-3') e reverso (5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3') e globina beta direto (5'-ATACA-ATGTATCATGCCTCTTTGCACC-3') e reverso (5'-GTATTTTCCCAAGGTTTGAAGT-AGCTC-3'), 2,0 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) e 2,0µl de DNA genômico de cada indivíduo em volume final de 50µl. A reação compreendeu 35 ciclos de incubação a 95°C (1 minuto), a 62°C (1 minuto) e a 72°C (1 minuto), como previamente descrito (Arruda *et al.*, 1998).

Fragmentos de 273 pares de bases (pb), 480 pb e 630 pb foram obtidos com a amplificação das regiões especificadas para os genes *GSTM1*, *GSTT1* e globina beta, respectivamente. A presença ou a deleção homozigótica dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram analisadas por eletroforese em gel de agarose a 2,0%. Os genótipos foram avaliados apenas quando foi identificada uma banda correspondente à amplificação do fragmento do gene da globina beta.

Os pacientes e controles foram distribuídos de acordo com os genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*. Os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram também avaliados em pacientes estratificados de acordo com a idade, o sexo, a raça, os hábitos de fumar e de consumir bebida alcoólica. Foram também avaliados em pacientes estratificados de acordo com o padrão de ingestão de carnes, aves e peixes, vegetais e cereais. Foram

também avaliados em pacientes estratificados pelos aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor como localização, grau de diferenciação e estágio TNM do tumor.

4.2.3 Identificação dos genótipos do gene *CYP1A1*

A porção do éxon 7 do gene *CYP1A1* que contém o polimorfismo T6235C foi amplificado por PCR. De forma sucinta, foram adicionados em tubo cônico de 0,6 ml, 2,0 µl de DNA a ser estudado, 5 µl de tampão da enzima (50 mM de cloreto de potássio e 10 mM de Tris-HCl pH 8,4), 2,5 µl de 2,5 mM de cloreto de magnésio e 0,5 µl de 0,1 mM de cada iniciador descrito por Cascorbi *et al.* (1996): direto (5'-GGCTGAGCAATCTGACC-CTA-3') e reverso (5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'), 1 µl da mistura de nucleosídeos trifosfato-dNTPs (dATP, dCTP, dTTP, dGTP, 0,2mM de cada um), e de 2,0 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, USA), em um volume final de 50 µl.

A reação de PCR, foi conduzida inicialmente por um ciclo a 94°C durante 5 minutos, para inativação de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática e posteriormente, por 35 ciclos de amplificação em termociclador (M.J. Research Inc, Waltham, Massachusetts, US). Cada ciclo foi realizado a 94°C durante 30 segundos (para a desnaturação do DNA), a 63°C durante 1 minuto (para a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e a 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). A seguir, as amostras foram mantidas sobre refrigeração a 4°C. Controles positivo (indivíduo com o genótipo selvagem em homozigose) e negativo (água) foram usados em todas as reações.

Oito µl dos produto da PCR foram submetidos à corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% com brometo de etídeo, para a visualização dos fragmentos amplificados sob luz ultravioleta. Fragmentos de 899 pb corresponderam à região do gene *CYP1A1* que contém o polimorfismo T6235C.

A substituição da timina pela citosina criou um sítio de restrição para a enzima *MspI* (Fermentas Inc; Hanover, USA) apenas no alelo variante (D'alo *et al.*, 2004). Assim, a diferenciação dos alelos selvagem e variante foi realizada por digestão enzimática dos

fragmentos amplificados. Para tal, a mistura de 10 µl do produto da PCR, 3,25 µl de água estéril, 1,50 µl de tampão e 0,25 µl da enzima *MspI* (Fermentas Inc; Hanover, USA) foi colocada em banho maria, a 37° C durante toda a noite. O produto da reação foi analisado por eletroforese em gel de agarose 2% com brometo de etídeo, para a visualização do fragmento amplificado sob luz ultravioleta. Um único fragmento de 899 pb correspondeu ao alelo selvagem T e fragmentos de 206 pb e 693 pb corresponderam ao alelo variante C (Cascorbi *et al.*, 1996).

Já para a amplificação da parte do éxon 7 do gene *CYP1A1* que contém o polimorfismo A4889G foram adicionados em tubo cônico de 0,6 ml, 2 µl de DNA a ser estudado e iguais concentrações dos demais reagentes usados para detecção do polimorfismo T6235C acima citadas e os iniciadores direto (5'-CTGTCTCCCTCTGGTT-ACAGGAAGC-3') e reverso (5'-TTCCACCCGTTGCGCAGGATAGCC-3'), descritos por Cascorbi *et al.* (1996), totalizando em volume final de 50 µl. A reação de PCR foi conduzida de maneira similar a descrita anteriormente. Apenas a temperatura para inativação das proteases foi de 95°C. Controles positivo (indivíduo com genótipo variante) e negativo (água) foram usados em todas as reações.

A seguir, 8 µl do produto da PCR foram submetidos à corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% com brometo de etídeo, para a visualização dos fragmentos amplificados sob luz ultravioleta. Fragmentos de 204 pb corresponderam à região do gene *CYP1A1* que contém o polimorfismo A4889G.

A substituição da adenina por guanina aboliu um sítio de restrição para a enzima *BsrDI* (Fermentas Inc; Hanover, USA) apenas no caso do alelo variante (D'alo *et al.*, 2004). Assim, a diferenciação dos alelos selvagem e variante foi realizada por digestão enzimática dos fragmentos amplificados. Para tal procedimento, a mistura com as mesmas quantidades de produto da PCR, H₂O estéril, tampão e da enzima *BsrDI* (Fermentas Inc; Hanover, USA) foi colocada em banho-maria, a 55°C durante a noite toda. Os produtos da reação foram submetidos à corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose a 2% com brometo de etídeo, para a visualização dos fragmentos amplificados sob luz ultravioleta. Os fragmentos de 204 pb corresponderam ao alelo

variante G enquanto que os fragmentos de 149 e 55 pb corresponderam ao alelo selvagem A (Cascorbi *et al.*, 1996).

Foram consideradas amostras com DNA obtidas em escassas quantidades, aquelas nas quais não foi observado o fragmento de 899 pares de base ou 204 pares de base, respectivamente.

Os pacientes e controles foram distribuídos de acordo com os genótipos dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1*.

Os polimorfismos dos genes T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* foram também avaliados em pacientes estratificados de acordo com a idade, o sexo, a raça, e os hábitos de fumar e de consumir bebida alcoólica. Foram também avaliados em pacientes estratificados de acordo com o padrão de ingestão de carnes, aves e peixes, de frutas, de vegetais e de cereais. Foram também avaliados em pacientes estratificados pelos aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor como localização, grau de diferenciação e estágio do tumor.

4.3 Aspectos éticos

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

O raio X de tórax e a tomografia computadorizada do pescoço 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 assinatura dos termos de consentimento por pacientes e controles (Anexos 25 e 26) e a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (Parecer nº 446/2005, CAAE: 0241.0.146.000-05) (Anexo 27).

4.4 Análise estatística

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

As determinações dos riscos de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço, a que os pacientes e controles foram ou estão 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, o sexo e o hábito de tabagismo. Regressão logística foi também utilizada para verificar a interação entre variáveis clínicas e anátomo-patológicas e biológicas do tumor.

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

As análises foram realizadas com a utilização do programa estatístico SAS System for Windows (Statistical Analysis System; Cary, North Carolina, US), versão 9.1.3 (Conover, 1971; Hosmer & Lemeshow, 1989).

5 RESULTADOS

5.1 Aspectos clínicos

As distribuições individualizadas dos 142 pacientes com CEC de cabeça e pescoço, estratificados por aspectos clínicos, estão apresentadas nos Anexos 28 a 30.

As frequências da distribuição desses pacientes, de acordo com as características clínicas, estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com a idade, o sexo e a raça

Variáveis	Número de pacientes (%)
Idade (anos)	142 (100,0)
< 57	69 (48,6)
≥ 57	73 (51,4)
Sexo	142 (100,0)
Masculino	134 (94,4)
Feminino	8 (5,6)
Raça	142 (100,0)
Caucasóide	111 (78,2)
Negróide	31 (21,8)

Os pacientes apresentaram idade entre 31 e 93 anos (média $\pm$ DP: 58 ± 10 anos, mediana: 57 anos). Cerca da metade da casuística foi constituída por pacientes com idade maior ou igual a 57 anos. A distribuição dos pacientes por sexo mostrou um forte predomínio da doença em pacientes do sexo masculino em relação aos do feminino, guardando uma relação entre si de 17:1. Já a distribuição dos pacientes por raça, mostrou que a doença ocorreu predominantemente em caucasóides.

Tabela 2 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com o hábito de fumar, ingerir bebidas alcoólicas e padrão alimentar

Variáveis	Número de pacientes (%)
Hábito de fumar	140* (100,0)
Não tabagista	5 (3,6)
Discreto	0 (0,0)
Moderado	61 (43,6)
Acentuado	74 (52,8)
Etilismo	135 *(100,0)
Não ingere	13 (9,6)
Discreto	14 (10,4)
Moderado	43 (31,9)
Acentuado	65 (48,1)
Ingestão de carnes, aves e peixes	142 (100,0)
Preconizada	91 (64,1)
Menor que a preconizada	33 (23,2)
Maior que a preconizada	18 (12,7)
Ingestão de frutas	142 (100,0)
Preconizada	66 (46,5)
Menor que a preconizada	70 (49,3)
Maior que a preconizada	6 (4,2)
Ingestão de vegetais	142 (100,0)
Preconizada	68 (47,9)
Menor que a preconizada	60 (42,2)
Maior que a preconizada	14 (9,9)
Ingestão de cereais	142 (100,0)
Preconizada	24 (16,9)
Menor que a preconizada	118 (83,1)
Maior do que a preconizada	0 (0,0)

* O número de casos avaliados difere do total (142) incluído no estudo porque não nos foi possível identificar o hábito de fumar e de ingerir bebidas alccólicas em alguns indivíduos

As distribuições dos pacientes pelo hábito de fumar e ingerir bebidas alcoólicas demonstrou que a doença ocorreu predominantemente em tabagistas e etilistas. Aqueles com hábito acentuado de fumar e ingerir bebidas alcoólicas constituíram cerca de metade da casuística do estudo.

A distribuição dos pacientes pelo padrão alimentar mostrou que cerca de metade do número de pacientes ingeriram frutas e vegetais em quantidade menor do que a preconizada pelo Ministério da Saúde. Ainda, dieta carente em cereais foi identificada na maioria dos pacientes com CEC de cabeça e pescoço.

As distribuições individualizadas dos pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos do tumor estão apresentados no Anexo 31.

As frequências das distribuições dos 142 pacientes com CEC de cabeça estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com a localização, a diferenciação e o estágio do tumor

Variáveis	Número de pacientes (%)
Localização do tumor	142 (100,0)
Cavidade oral e lábios	29 (20,4)
Faringe	67 (47,2)
Laringe	37 (26,1)
Cavidade nasal e seios paranasais	9(6,3)
Diferenciação do tumor	128* (100,0)
Bem diferenciado	12 (9,4)
Moderadamente diferenciado	91 (71,1)
Pouco diferenciado	16 (12,5)
Indiferenciado	9 (7,0)
Bem + moderadamente diferenciado	103 (80,5)
Pouco + indiferenciado	25 (19,5)
Estádio TNM**	137*(100,0)
I	13 (9,5)
II	21 (15,3)
III	20 (14,6)
IV	83 (60,6)
I + II	34 (24,8)
III + IV	103 (75,2)

* O número de casos avaliados difere do total (142) incluído no estudo porque não nos foi possível identificar o grau de diferenciação e o estágio do tumor em alguns indivíduos, **: estádios definidos pelas normas do *American Joint Comittee on Cancer*

A distribuição dos pacientes por localização do tumor mostrou que cerca de metade do número de tumores ocorreu na região de faringe. Já a região de cavidade nasal e seios paranasais foi a menos atingida.

A distribuição dos pacientes por grau de diferenciação do tumor mostrou que houve predominância de pacientes com tumor moderadamente diferenciado.

A distribuição dos pacientes por estádios do sistema TNM mostrou que houve predominância daqueles com a doença em estádios avançados (III e IV).

Um tumor de cavidade oral do tipo carcinoma de células escamosas de um paciente avaliado no estudo (caso nº 44), está apresentado nas figuras 1 e 2.

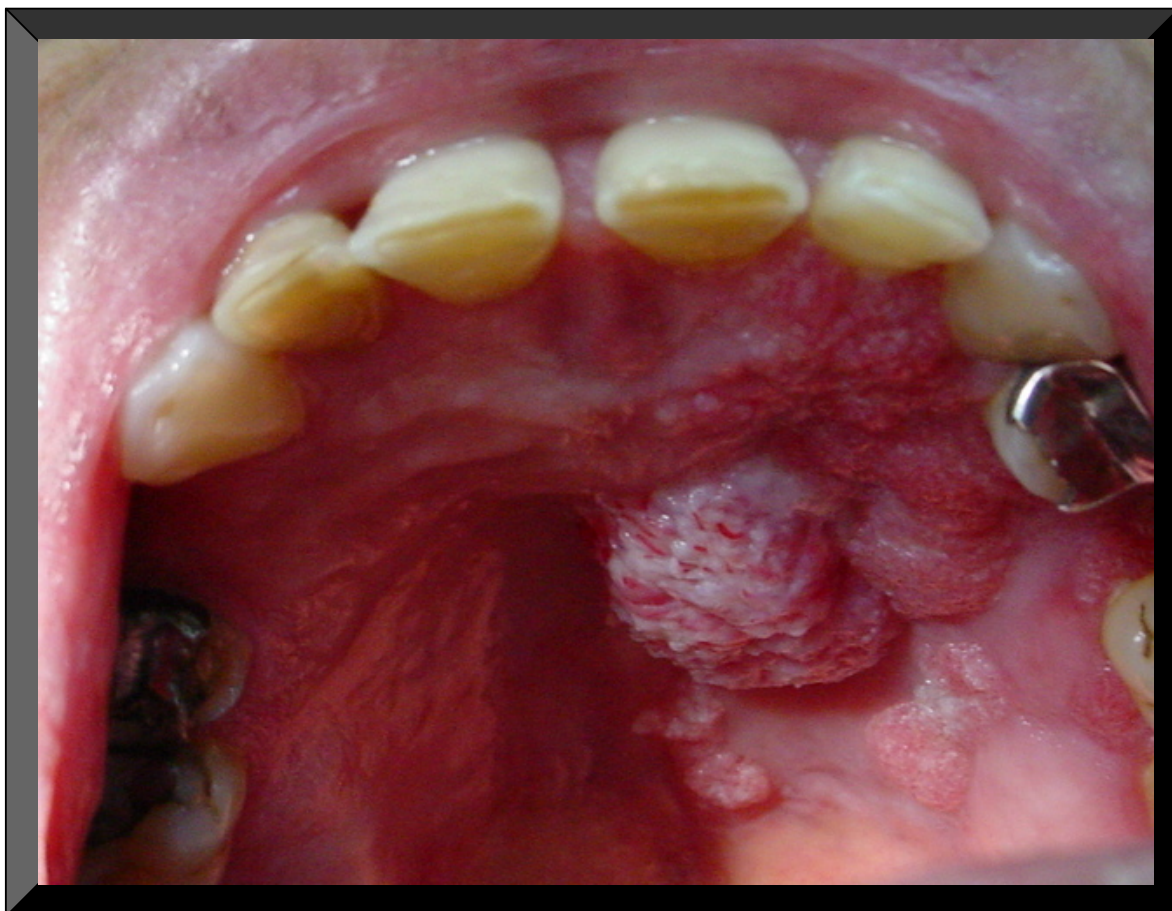


Figura 1 – Foi evidenciada, ao exame da cavidade oral, uma lesão principal nodular, com 3,5 cm de diâmetro, cor rósea e superfície granulosa, recoberta por pseudomembrana esbranquiçada, localizada em palato duro. Lesões adjacentes múltiplas, com cerca de 0,5 cm de diâmetro e aspectos similares aos da lesão principal, foram também visualizadas durante o exame. As anormalidades morfológicas, identificadas durante o exame histológico das lesões, foram compatíveis com o carcinoma de células escamosas (Caso nº 44)

As distribuições individualizadas dos 142 controles, estratificados por aspectos clínicos estão apresentadas no Anexo 32.

A idade destes indivíduos variou entre 49 e 60 anos (média $\pm$ DP: 55 ± 3 anos, mediana: 55,0 anos). Cento e trinta foram do sexo masculino e 12 do sexo feminino (relação de 10,8: 1). Cento e dez foram caucasóides (77,5%), 31 foram negróides (21,8%) e um único controle foi asiático (0,7%). Entre eles, 31 (21,8%) eram tabagistas e 80 (56,4%) eram não tabagistas. A informação não pode ser obtida em 31 controles.

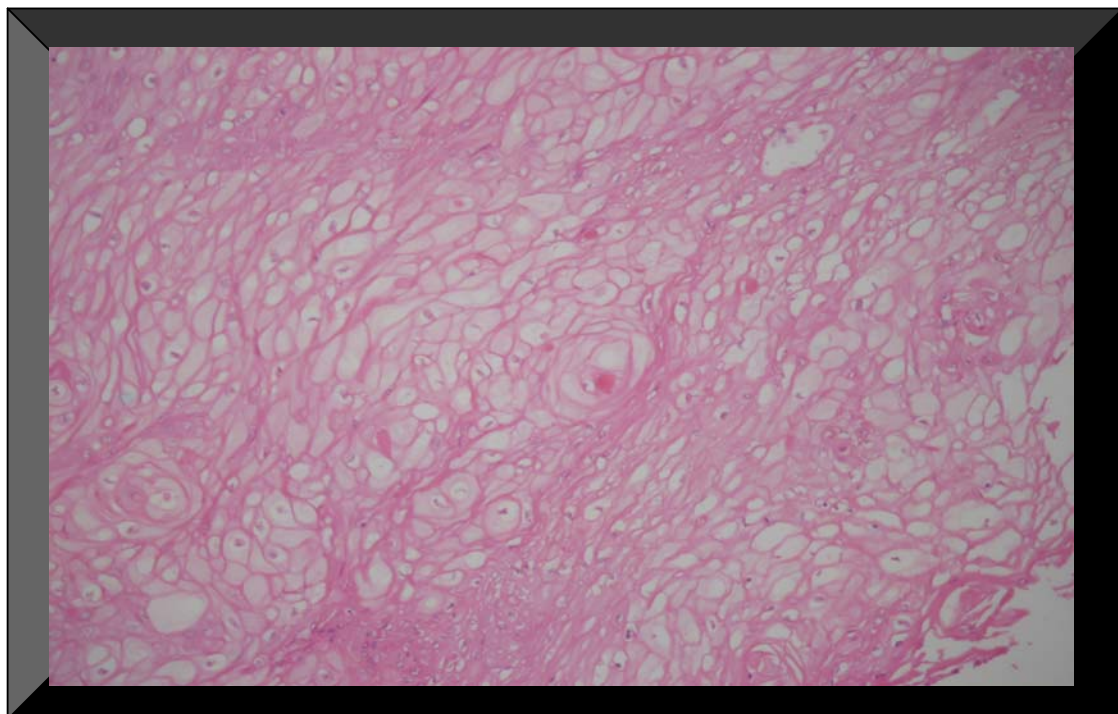


Figura 2 – Carcinoma de células escamosas do palato duro, evidenciado pela coloração H & E (aumento original x 400) (Caso no 44)

5.2 Análise molecular dos genes *GSTM1* e *GSTT1*

5.2.1 Genótipos em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos pacientes e dos controles, estratificados pelos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, estão apresentadas nos Anexos 31 e 32, respectivamente.

As frequências dos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes e controles estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Frequências dos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles

	<i>GSTM1</i>		<i>GSTT1</i>		<i>GSTM1/T1</i>		
	Presente n (%)	Deletado n (%)	Presente n (%)	Deletado n (%)	Ambos presentes n (%)	Um deletado n (%)	Ambos deletados n (%)
Casos	84 (59,2)	58 (40,8)	106 (74,7)	36 (25,3)	60 (42,2)	70 (49,3)	12 (8,5)
Controles	76 (53,5)	66 (46,5)	113 (79,6)	29 (20,4)	60 (42,2)	69 (48,6)	13 (9,2)
OR (IC 95%)	1,00 (ref)	0,80 (0,49 – 1,27)	1,00 (ref)	1,32 (0,75 – 2,30)	1,00 (ref)	1,01 (0,62 – 1,65)	0,92 (0,39 – 2,18)
OR* (IC 95%)	1,00 (ref)	0,59 (0,28 – 1,22)	1,00 (ref)	0,97 (0,41 – 2,24)	1,00 (ref)	1,13 (0,51 – 2,50)	0,37 (0,11 – 1,14)
Valor P		0,16		0,94		0,76	0,08

n: número de casos, OR: razão das chances, OR*: ajustada por idade, sexo, raça e tabagismo

Não foram observadas diferenças entre as frequências das deleções homozigóticas isoladas ou combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles.

Riscos similares da doença foram observadas em indivíduos com as deleções isoladas ou combinadas dos genes e naqueles portadores dos genes.

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

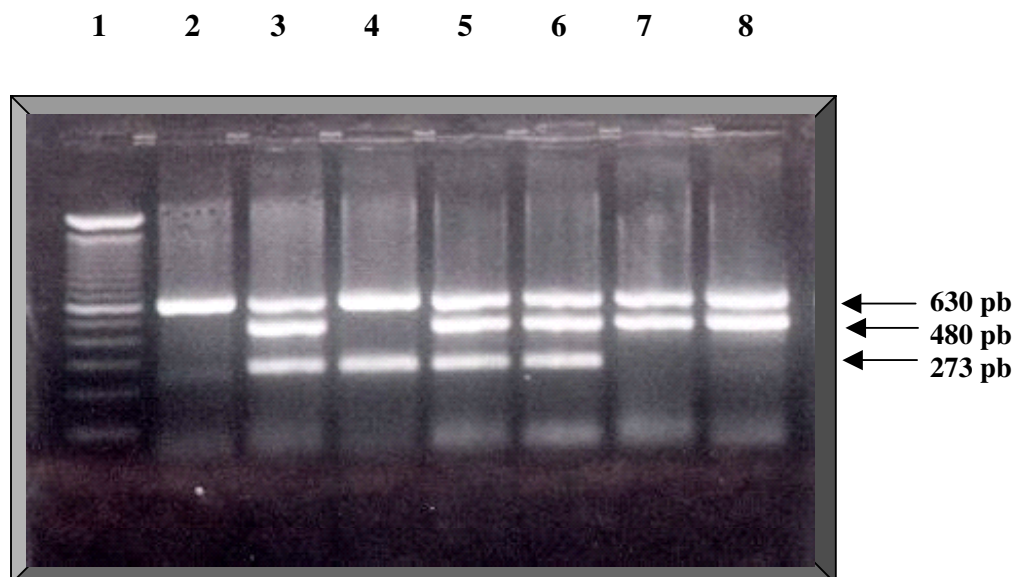


Figura 3 – Multiplex-PCR para a identificação dos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* do sistema da glutathione S-transferase, em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles, em gel de agarose a 2,0%. O fragmento de 630 pares de base (pb) representa um fragmento do gene da globina beta, utilizado como controle da amostra de DNA. Fragmentos de 480 pb e 273 pb correspondem à presença dos alelos *GSTT1* e *GSTM1*, respectivamente. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está apresentado na coluna 1. O resultado obtido de um indivíduo com deleção combinada dos genes *GSTM1* e *GSTT1* está apresentado na coluna 2. Os resultados obtidos em indivíduos com a presença dos alelos *GSTM1* e *GSTT1* estão apresentados nas colunas 3, 5 e 6 e o obtido em um indivíduo com deleção homozigótica do gene *GSTT1* está apresentado na coluna 4. Os resultados obtidos de indivíduos com deleção homozigótica do gene *GSTM1* estão apresentados nas colunas 7 e 8

5.2.2 Genótipos em pacientes estratificados por aspectos clínicos

As frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos estão apresentadas nas Tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça

Variáveis	n	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1/T1</i>	
		Deletado n (%)	Deletado n (%)	Um deletado n (%)	Ambos deletados n (%)
Idade (anos)	142				
< 57	69	28 (40,6)	16 (23,2)	38 (55,1)	3 (4,3)
≥ 57	73	30 (41,1)	20 (27,4)	32 (43,8)	9 (12,3)
Valor de <i>P</i>		0,95	0,56	0,48	0,21
Sexo	142				
Masculino	134	54 (40,3)	36 (26,9)	66 (49,3)	12 (9,0)
Feminino	8	4 (50,0)	0 (0,0)	4 (50,0)	0 (0,0)
Valor de <i>P</i>		0,72	0,20	1,00	1,00
Raça	142				
Caucasóide	111	47 (42,3)	29 (26,1)	58 (52,3)	9 (8,1)
Negróide	31	11 (35,5)	7 (22,6)	12 (38,7)	3 (9,7)
Valor de <i>P</i>		0,49	0,69	0,21	1,00

n: número de casos

Tabela 6 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelo hábito de fumar e ingerir bebidas alcóolicas

Variáveis	n	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1/T1</i>	
		Deletado n (%)	Deletado n (%)	Um deletado n (%)	Ambos deletados n (%)
Hábito de fumar	140				
Não tabagista	5	1 (20,0)	1 (20,0)	2 (40,0)	0 (0,0)
Discreto	0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Moderado	61	23 (37,7)	12 (19,7)	29 (47,5)	3 (2,1)
Acentuado	74	33 (44,6)	23 (31,1)	38 (51,4)	9 (6,3)
Valor de <i>P</i>		0,471	0,311	0,419	0,387
Não + Moderado	66	24 (36,4)	13 (19,7)	31 (47,0)	3 (2,1)
Acentuado	74	33 (44,6)	23 (31,1)	38 (51,4)	9 (6,3)
Valor de <i>P</i>		0,322	0,123	0,375	0,111
Etilismo	135				
Não etilista	13	4 (30,8)	3 (23,1)	5 (38,5)	1 (0,7)
Discreto	14	3 (21,4)	1 (7,1)	4 (28,6)	0 (0,0)
Moderado	43	25 (58,1)	11 (25,6)	26 (60,5)	5 (3,5)
Acentuado	65	25 (38,5)	20 (30,8)	33 (50,8)	6 (4,2)
Valor de <i>P</i>		0,045 #	0,340	0,145	0,201
Não + discreto	27	7 (25,9)	4 (14,8)	9 (33,3)	1 (0,7)
Moderado + acentuado	108	50 (46,3)	31 (28,7)	59 (54,6)	11 (7,7)
Valor de <i>P</i>		0,055 ##	0,141	0,025 ###	1,579

n: número de casos, o número de casos avaliados difere do total (142) incluído no estudo porque não nos foi possível identificar o hábito de fumar e ingerir bebidas alcóolicas de alguns indivíduos. Os valores de *P*, foram ajustados pela análise multivariada: #, *P*= 0,073; ##, *P*= 0,054; ###, *P*= 0,274

Tabela 7 – Frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados pelo padrão da dieta

Variáveis	n	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1/T1</i>	
		Deletado n (%)	Deletado n (%)	Um deletado n (%)	Ambos deletados n (%)
Ingestão carnes, aves e peixes	142				
Preconizada ou maior	109	47 (43,1)	27 (24,8)	58 (53,2)	8 (7,3)
Menor que a preconizada	33	11 (33,3)	9 (27,3)	12 (36,4)	4 (12,1)
Valor de <i>P</i>		.0,41	0,82	0,24	0,73
Ingestão de frutas	142				
Preconizada ou maior	72	29 (40,2)	20 (27,8)	39 (54,2)	5 (7,6)
Menor que a preconizada	70	29 (41,4)	16 (22,9)	31 (44,3)	7 (10,0)
Valor de <i>P</i>		1,00	0,56	0,53	1,00
Ingestão de vegetais	142				
Preconizada ou maior	82	34 (41,5)	21 (25,6)	45 (54,9)	5 (6,1)
Menor que a preconizada	60	24 (40,0)	15 (25,0)	25 (41,7)	7 (11,7)
Valor de <i>P</i>		1,00	1,00	0,44	0,53
Ingestão de cereais	142				
Preconizada ou maior	24	10 (41,7)	8 (33,3)	12 (50,0)	3 (12,5)
Menor que a preconizada	118	48 (40,7)	28 (23,7)	58 (49,2)	9 (7,6)
Valor de <i>P</i>		1,00	0,55	0,70	1,00

n: número de casos

Não foram observadas diferenças entre as frequências das deleções homozigóticas isoladas ou combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço, estratificados por idade, sexo, raça ou hábito de fumar.

A frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com etilismo moderado foi maior do que a observada em pacientes não etilistas, etilistas com hábito discreto e etilistas com hábito acentuado, quando apenas a análise univariada foi utilizada. Uma tendência a uma maior frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* e uma maior frequência de uma gene deletado em pacientes com etilismo moderado ou acentuado comparados aos demais foram também observadas quando as comparações entre os dois grupos foi realizada pela análise univariada. Após a correção de interações entre variáveis pela análise multivariada, observamos apenas uma tendência a uma maior frequência de deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com o hábito moderado ou acentuado de etilismo.

Não foram observadas diferenças entre as frequências das deleções homozigóticas isoladas ou combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço, estratificados por ingestão preconizada, menor que a preconizada e maior que a preconizada dos vários tipos de alimentos avaliados no estudo.

Foram também similares as frequências da deleção homozigótica do gene *GSTM1*, da deleção homozigótica do gene *GSTT1* e da deleção combinada dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes estratificados por ingestão preconizada ou maior que a preconizada de carnes aves e peixes e menor que a preconizada de carnes, aves e peixes, preconizada ou maior que a preconizada de frutas e menor que a preconizada de frutas, preconizada ou maior que a preconizada de vegetais e menor que a preconizada de vegetais e preconizada ou maior que a preconizada de cereais e menor que a preconizada de cereais.

5.2.3 Genótipos em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

As frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor, estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Frequências das deleções dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

Variáveis	n	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1/T1</i>	
		Deletado n (%)	Deletado n (%)	Um deletado n (%)	Ambos deletados n (%)
Localização tumor	142				
Cavidade oral e lábios	29	10 (34,5)	7 (24,1)	11 (37,9)	3 (10,3)
Faringe	67	32 (47,8)	19 (28,4)	39 (58,2)	6 (9,0)
Laringe	37	14 (37,8)	9 (24,3)	17 (45,9)	3 (8,1)
Cavidade nasal e seios	9	2 (22,2)	1 (11,1)	3 (33,3)	0 (0,0)
Valor de <i>P</i>		0,356	0,723	0,373	0,366
Diferenciação tumor	128*				
Bem	12	4 (33,3)	2 (16,7)	4 (33,3)	1 (8,3)
Moderadamente	91	38 (41,8)	22 (24,2)	46 (50,5)	7 (7,7)
Pouco	16	9 (56,3)	6 (37,5)	11 (68,8)	2 (12,5)
Indiferenciado	9	4 (44,4)	2 (22,2)	4 (44,4)	1 (11,1)
Valor de <i>P</i>		0,644	0,632	0,370	0,349
Bem + moderadamente	103	42 (40,8)	24 (23,3)	50 (48,5)	8 (7,7)
Pouco + indiferenciado	25	13 (52,0)	8 (32,0)	15 (60,0)	3 (12,0)
Valor de <i>P</i>		0,309	0,368	0,340	0,360
Estádio TNM **	137*				
I	13	2 (15,4)	3 (23,1)	5 (38,5)	0 (0,0)
II	21	9 (42,9)	5 (23,8)	8 (38,1)	3 (14,3)
III	20	2 (10,0)	7 (35,0)	9 (45,0)	0 (0,0)
IV	83	43 (51,8)	19 (22,9)	46 (55,4)	8 (9,6)
Valor de <i>P</i>		0,001	0,735	0,218	0,231
I + II + III	54	11 (20,4)	15 (27,8)	22 (40,7)	3 (2,1)
IV	83	43 (51,8)	19 (22,9)	46 (55,4)	8 (5,6)
Valor de <i>P</i>		0,0003 #	0,548	0,048 ##	0,202

*: números diferiram do total inserido no estudo (142) porque não foi possível identificar dados de alguns tumores, **: estádios definidos pelas normas do *American Joint Committee on Cancer*. Os valores de *P* e das razões das chances (OR) foram ajustados pela análise multivariada: #, *P*= 0,002, OR= 4,2; ##, *P*= 0,051, OR= 3,07

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências da deleção homozigótica isolada ou combinada dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados pela localização ou grau de diferenciação do tumor. Entretanto frequências maiores da deleção do gene *GSTM1* e da deleção de um dos genes foram observadas em pacientes com tumores de estágio avançado (IV) quando comparados àqueles com tumores de outros estádios (I + II + III) por meio da análise univariada.

A frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço do estágio IV foi similar à frequência de deleção do gene em controles (51,8% versus 46,5%, $P= 0,44$), porém a frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com tumores dos estádios I, II e III foi menor que a encontrada em controles (20,4% versus 46,5%, $P= 0,0008$; OR= 0,29).

Ainda, pacientes com CEC de cabeça e pescoço e com a deleção homozigótica do gene *GSTM1* apresentaram risco 4,2 vezes maior de tumor avançado do que aqueles com a presença do gene.

5.3 Análise molecular do gene *CYP1A1*

5.3.1 Genótipos do polimorfismo T6235C em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos pacientes e dos controles estratificados pelos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* estão apresentadas nos Anexos 31 e 32, respectivamente.

As amostras dos controles e dos pacientes estiveram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para o locus do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* ($X^2= 0,002$, $P= 0,964$; $X^2= 0,001$, $P= 0,974$).

As frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles

Genótipos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%)	OR* (IC 95%)	Valor de P
TT	90 (63,4)	94 (66,2)	1,00 ref	1,00 ref	
TC	46 (32,4)	43 (30,3)	1,12 (0,67– 1,85)	0,98 (0,44– 2,18)	0,87
CC	6 (4,2)	5 (3,5)	1,25 (0,37– 4,25)	0,64 (0,1– 3,29)	
TT + TC	136 (95,8)	137 (96,5)	1,00 ref	1,00 ref	
CC	6 (4,2)	5 (3,5)	1,21 (0,36– 4,05)	0,64 (0,13– 3,24)	0,60
TT	90 (63,4)	94 (66,2)	1,00 ref	1,00 ref	
TC + CC	52 (36,6)	48 (33,8)	1,13 (0,70–1,84)	0,93 (0,44–1,98)	0,85

n: número de casos, OR: razão das chances, OR*: ajustada por idade, sexo, raça e tabagismo, TT: indivíduos com o genótipo selvagem, TC: indivíduos com o genótipo heterozigoto, CC: indivíduos com o genótipo variante em homozigose

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos TT, TC e CC, isolados ou combinados, em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles.

Os genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* de alguns pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles do estudo estão apresentados na Figura 4.

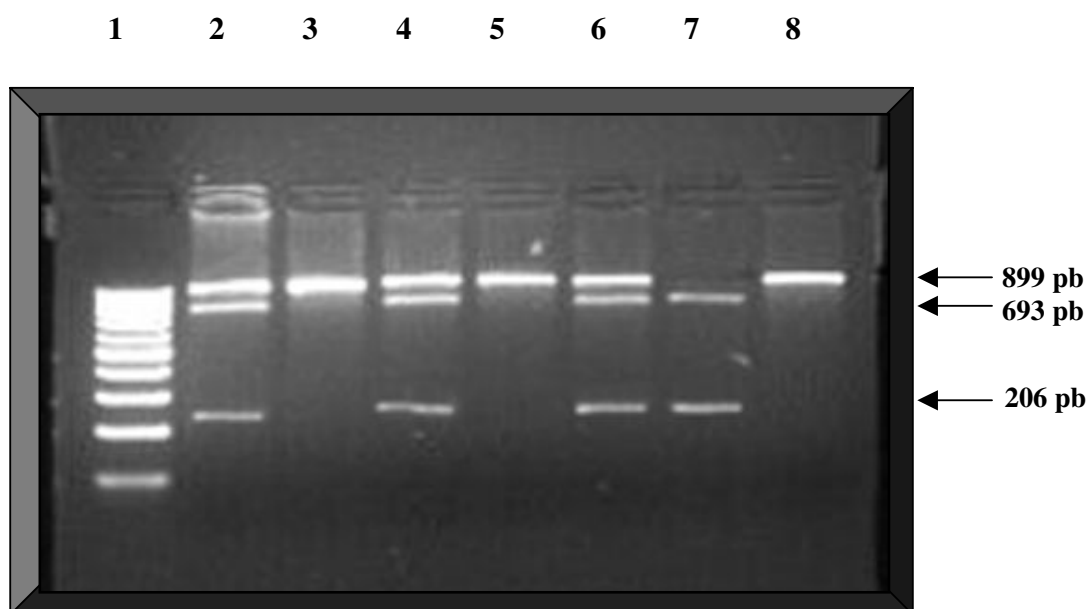


Figura 4 – Produtos da amplificação gênica e da digestão enzimática, com a enzima *MspI*, para a identificação dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* do sistema do citocromo P450, em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e controles, em gel de agarose 2%. Os fragmentos de 899 pares de base (pb) correspondem ao alelo selvagem T e os fragmentos de 206 e 693 pb correspondem ao alelo variante C. O marcador do tamanho do DNA ladder 100 pb está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo selvagem TT, em homozigose, estão representados nas colunas 3, 5 e 8. Indivíduos com o genótipo heterozigoto TC estão representados nas colunas 2, 4 e 6. Um indivíduo com o genótipo variante CC, em homozigose, está apresentado na coluna 7

5.3. 2 Genótipos do polimorfismo T6235C em pacientes estratificados por aspectos clínicos

As frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça

Variáveis	n	Polimorfismo T6235C				
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Idade (anos)	142					
< 57	27	19 (70,4)	7 (25,9)	1 (3,7)	26 (96,3)	8 (29,6)
≥ 57	115	71 (61,7)	39 (33,9)	5 (4,4)	110 (95,6)	44 (38,2)
Valor de <i>P</i>			0,80		1,00	0,80
Sexo	142					
Masculino	134	84 (62,7)	44 (32,8)	6 (4,5)	128 (95,5)	50 (3,7)
Feminino	8	6 (75,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	8 (100,0)	2 (25,0)
Valor de <i>P</i>			0,80		1,00	0,71
Raça	142					
Caucasóide	111	71 (63,9)	37 (33,4)	3 (2,7)	108 (97,3)	40 (36,0)
Negróide	31	19 (61,3)	9 (29,0)	3 (9,7)	28 (90,3)	12 (38,7)
Valor de <i>P</i>			0,24		0,12	0,83

n: número de casos, TT: indivíduos com o genótipo selvagem em homozigose, TC: indivíduos com o genótipo heterozigoto, CC: indivíduos com o genótipo variante em homozigose

Tabela 11 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por hábito de fumar, ingerir bebidas alcóolicas e padrão da dieta

Variáveis	n	Polimorfismo T6235C				
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Hábito de fumar*	140					
Não tabagista + moderado	66	45 (68,2)	17 (25,8)	4 (6,1)	62 (93,9)	21 (31,8)
Acentuado	74	44 (57,1)	28 (37,8)	2 (2,7)	72 (97,3)	30 (40,5)
Valor de <i>P</i>			0,25		0,42	0,30
Etilismo*	135					
Não ingere +discreto	27	15 (55,5)	11 (40,8)	1 (3,7)	26 (96,3)	12 (44,4)
Moderado + acentuado	108	69 (63,9)	35 (32,4)	4 (3,7)	104 (96,3)	39 (36,1)
Valor de <i>P</i>			0,68		1,00	0,51
Ingestão carnes, aves e peixes	142					
Preconizada ou maior	109	67 (61,5)	39 (35,8)	3 (2,7)	106 (97,2)	42 (38,5)
Menor que a preconizada	33	23 (69,7)	7 (21,2)	3 (9,1)	30 (90,9)	10 (30,3)
Valor de <i>P</i>			0,11		0,14	0,42
Ingestão de frutas	142					
Preconizada ou maior	72	44 (61,1)	26 (36,1)	2 (2,8)	70 (97,2)	28 (38,9)
Menor que a preconizada	70	46 (65,7)	20 (28,6)	4 (5,7)	66 (94,3)	24 (34,3)
Valor de <i>P</i>			0,49		0,44	0,49
Ingestão de vegetais	142					
Preconizada ou maior	82	50 (61,0)	31 (37,8)	1 (1,2)	81 (98,8)	32 (39,0)
Menor que a preconizada	60	40 (66,7)	15 (25,0)	5 (8,3)	55 (91,7)	20 (33,3)
Valor de <i>P</i>			0,05 #		0,08	0,60
Ingesta de cereais	142					
Preconizada ou maior	24	13 (54,2)	11 (45,8)	0 (0,0)	24 (100,0)	11 (45,8)
Menor que a preconizada	118	77 (65,3)	35 (29,7)	6 (5,1)	112 (94,9)	41 (34,7)
Valor de <i>P</i>			0,26		0,60	0,36

TT: genótipo selvagem homozigoto, TC: genótipo heterozigoto, CC: genótipo variante homozigoto, *: número diferente do total (142) devido a falta de dados. O valor de *P* foi ajustado pela análise multivariada: #, *P*= 0,99

Não foram observadas diferenças entre as frequências dos genótipos isolados ou combinados do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço, estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar ou de ingerir bebidas alcoólicas.

As frequências dos genótipos isolados e combinados do polimorfismo gênico foram também similares em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por ingestão preconizada ou maior que a preconizada e em pacientes com ingestão menor que a preconizada para carnes, frutas e cereais. Houve uma tendência a uma menor frequência do genótipo heterozigoto TC em pacientes com ingestão menor que a preconizada de vegetais, quando comparados aos demais por meio da análise univariada. Entretanto, o genótipo ocorreu de forma similar nos dois grupos após correção das interações de variáveis por meio da análise multivariada. A frequência do genótipo TC em pacientes com ingestão preconizada ou maior do que a preconizada de vegetais foi similar à observada em controles (37,8% *versus* 30,3%, $P= 0,21$; OR= 1,63). Foram também similares as frequências do genótipo TC em pacientes com ingestão menor do que a preconizada e controles (25,0% *versus* 30,3%, $P= 0,14$; OR= 2,49).

5.3.3 Genótipos do polimorfismo T6235C em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

As frequências do polimorfismo T6235C em pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 – Frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos do tumor

Variáveis	n	Polimorfismo T6235C				
		TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	TT + TC n (%)	TC + CC n (%)
Localização do tumor	142					
Cavidade oral	29	16 (55,2)	13 (44,8)	0 (0,0)	29 (100,0)	13 (44,8)
Faringe	67	39 (58,2)	26 (38,8)	2 (3,0)	65 (97,0)	28 (41,8)
Laringe	37	29 (78,4)	5 (13,5)	3 (8,1)	34 (91,9)	8 (21,6)
Cavidade nasal e seios	9	6 (66,7)	2 (22,2)	1 (11,1)	8 (88,9)	3 (33,3)
Valor de <i>P</i>			0,026		0,122	0,198
Faringe	67	39 (58,2)	26 (38,8)	2 (3,0)	65 (97,0)	28 (41,8)
Outros tumores	75	51 (68,0)	20 (26,6)	4 (5,4)	71 (94,7)	24 (32,0)
Valor de <i>P</i>			0,831		0,244	0,281
Laringe	37	29 (78,4)	5 (13,5)	3 (8,1)	34 (91,9)	8 (21,6)
Outros tumores	105	61 (58,1)	41 (39,0)	3 (2,8)	102 (97,1)	44 (41,9)
Valor de <i>P</i>			0,005 #		0,1823	0,030 ##
Grau de diferenciação	128					
Bem + moderadamente	103	65 (45,9)	34 (23,9)	4 (2,8)	99 (69,7)	38 (36,9)
Pouco + indiferenciado	25	15 (10,5)	9 (6,3)	1 (0,7)	24 (16,9)	10 (40,0)
Valor de <i>P</i>			0,922		1,000	0,820
Estádio TNM	137					
I + II	34	25 (17,6)	8 (5,6)	1 (0,7)	33 (23,3)	9 (26,5)
III + IV	103	60 (42,3)	38 (26,8)	5 (3,5)	98 (69,0)	43 (41,7)
Valor de <i>P</i>			0,285		1,000	0,153

n: número de casos, TT: genótipo selvagem em homozigose, TC: polimorfismo em heterozigose, CC: genótipo variante em homozigose. Os valores de *P* foram ajustados pela análise multivariada: #, *P*= 0,009; ##, *P*= 0,030

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos isolados ou combinados do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar ou ingerir bebidas alcoólicas e padrão de ingestão de carnes, frutas e cereais.

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo gênico, isolados ou combinados, em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados pelo grau de diferenciação e estádios do tumor.

Entretanto as frequências do genótipo heterozigoto TC e da combinação dos genótipos variantes heterozigoto e homozigoto (TC e CC) foram menores em pacientes com CEC de laringe do que em pacientes com CEC de outras localizações. As significâncias das diferenças entre as frequências dos genótipos variantes foram também evidentes após a correção da interação entre variáveis pela análise multivariada.

As frequências do genótipo TC isolado (13,5% *versus* 30,3%, $P= 0,059$) e combinado TC e CC (21,6% *versus* 33,8%, $P= 0,15$; OR= 0,54) em pacientes com CEC de laringe foram similares à observadas em controles.

5.3.4 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes e controles

As distribuições individualizadas dos 142 pacientes e dos 142 controles estratificados pelos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, estão apresentadas nos Anexos 31 e 32, respectivamente.

As amostras dos controles e dos pacientes estiveram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para o locus do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* ($X^2= 0,810$, $P= 0,368$; $X^2= 0,144$, $P= 0,704$).

As frequências do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes e controles estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e em 142 controles

Genótipos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%)	OR* (IC 95%)	Valor P
AA	94 (66,2)	102 (71,8)	1,00 ref	1,00 ref	
AG	41 (28,9)	36 (25,4)	1,24 (0,73– 2,10)	1,13 (0,50– 2,57)	0,91
GG	7 (4,9)	4 (2,8)	1,90 (0,54– 6,70)	1,40 (0,22– 9,04)	
AA + AG	135 (95,1)	138 (97,2)	1,00 ref	1,00 ref	
GG	7 (4,9)	4 (2,8)	1,79 (0,51– 6,25)	1,35 (0,21– 8,65)	0,75
AA	94 (66,2)	102 (71,8)	1,00 ref	1,00 ref	
AG + GG	48 (33,8)	40 (28,2)	1,30 (0,79 -2,16)	1,16 (0,53- 2,54)	0,71

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

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos AA, AG e GG, isolados ou combinados, em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles.

Os genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* de alguns pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles do estudo estão apresentados na Figura 5.

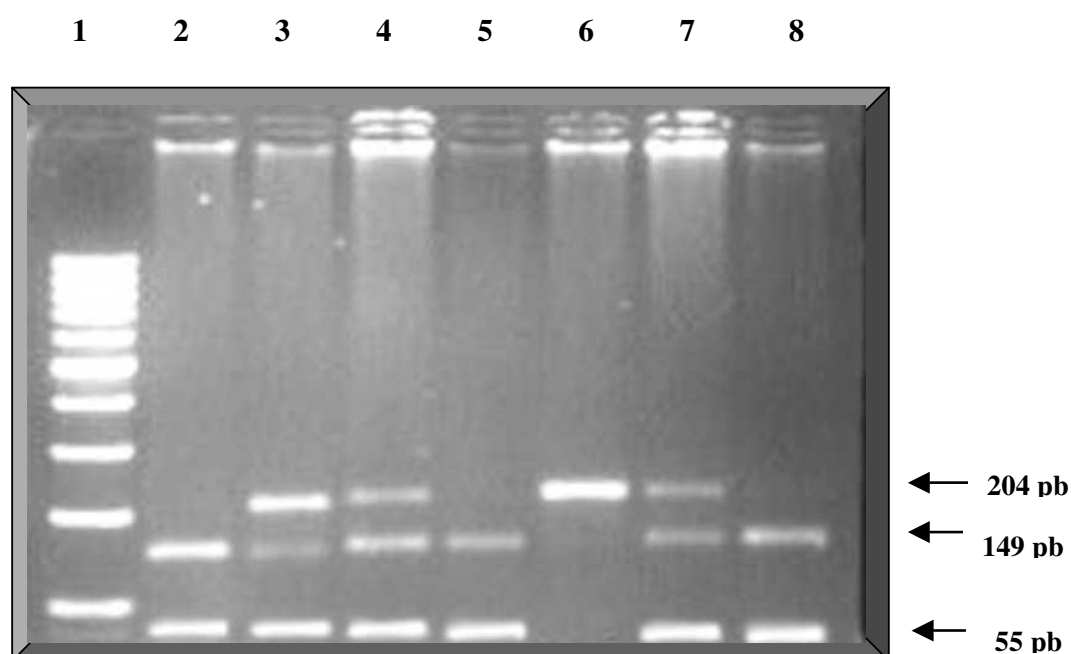


Figura 5 – Produtos da amplificação gênica e da digestão enzimática, com a enzima *BsrDI*, para a identificação dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, do sistema do citocromo P450, em gel de agarose 2%. O fragmento de 204 pares de base (pb) correspondeu ao alelo variante G e os fragmentos de 149 pb e 55 pb corresponderam ao alelo selvagem A. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está representado na coluna 1. Os resultados obtidos de indivíduos com o genótipo selvagem AA, em homozigose, estão representados nas colunas 2, 5 e 8. Os resultados obtidos em indivíduos com o genótipo heterozigoto AG estão representados nas colunas 3, 4 e 7. Um indivíduo com o genótipo variante GG, em homozigose, está representado na coluna 6

5.3.5 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes estratificados por aspectos clínicos

As frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por aspectos clínicos estão apresentados nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça

Variáveis	n	Polimorfismo A4889G				
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Idade (anos)	142					
< 57	27	19 (70,4)	7 (25,9)	1 (3,7)	26 (96,3)	8 (29,6)
≥ 57	115	75 (65,2)	34 (29,6)	6 (.5,2)	109 (94,8)	40 (34,8)
Valor de <i>P</i>			0,93		1,00	0,66
Sexo	142					
Masculino	134	87 (64,9)	40 (.29,9)	7 (.5,2)	127 (94,8)	47 (35,1)
Feminino	8	7 (87,5)	1 (12,5)	0 (0,0)	8 (100,0)	1 (12,5)
Valor de <i>P</i>			0,63		1,00	0,27
Raça	142					
Caucasóide	111	71 (64,0)	36 (32,4)	4 (3,6)	107 (96,4)	40 (36,0)
Negróide	31	23 (74,2)	5 (16,1)	3 (9,7)	28 (90,3)	8 (25,8)
Valor de <i>P</i>			0,11		0,11	0,39

n: número de casos, AA: indivíduos com o genótipo selvagem em homozigose, AG: indivíduos com o genótipo heterozigoto, GG: indivíduos com o genótipo variante em homozigose

Tabela 15 – Frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por hábito de fumar, ingerir bebidas alcóolicas e padrão da dieta

Variáveis	n	Polimorfismo A4889G				
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Hábito de fumar	140					
Não tabagista + moderado	66	50 (75,8)	13 (19,7)	3 (4,5)	63 (95,4)	16 (24,2)
Acentuado	74	43 (58,1)	27 (36,5)	4 (5,4)	70 (94,6)	31 (41,9)
Valor de <i>P</i>			0,07		1,000	0,03 #
Etilismo	135					
Não ingere + discreto	27	21 (77,8)	3 (11,1)	3 (11,1)	24 (88,9)	6 (22,2)
Moderado + acentuado	108	67 (62,0)	37 (34,3)	4 (3,7)	104 (96,3)	41 (38,0)
Valor de <i>P</i>			0,03 ##		0,143	0,18
Ingestão carnes, aves e peixes	142					
Preconizada ou maior	109	72 (66,1)	33 (30,3)	4 (3,6)	105 (96,3)	37 (33,9)
Menor que preconizada	33	22 (66,6)	8 (24,2)	3 (9,1)	30 (90,9)	11 (33,3)
Valor de <i>P</i>			0,40		0,35	1,00
Ingestão de frutas	102					
Preconizada ou maior	72	47 (65,3)	21 (29,2)	4 (5,5)	68 (94,4)	25 (34,7)
Menor que a preconizada	70	47 (67,1)	20 (28,6)	3 (4,3)	67 (95,7)	23 (32,8)
Valor de <i>P</i>			1,00		1,00	0,86
Ingestão de vegetais	142					
Preconizada ou maior	82	56 (68,3)	25 (30,5)	1 (1,2)	81 (98,8)	26 (31,7)
Menor que a preconizada	60	38 (63,3)	16 (26,6)	6 (10,0)	54 (90,0)	22 (36,6)
Valor de <i>P</i>			0,08		0,05	0,59
Ingestão de cereais						
Preconizada ou maior	24	14 (58,3)	10 (7,0)	0 (0,0)	24 (100,0)	10 (41,6)
Menor que a preconizada	118	80 (67,8)	31 (26,3)	7 (5,9)	111 (94,1)	38 (32,2)
Valor de <i>P</i>			0,19		0,60	0,48

n: número de casos, AA: genótipo selvagem em homozigose, AG: genótipo heterozigoto, GG: genótipo variante em homozigose. Os valores de *P* foram ajustados pela análise multivariada: #, *P*= 0,05; ##, *P*= 0,33

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, nos pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo, raça e padrão da dieta.

A frequência combinada dos genótipos variantes (AG e GG) foi maior em pacientes com hábito acentuado de fumar do que nos demais pacientes, quando a comparação foi realizada por meio da análise univariada. Apenas uma tendência de maior frequência dos genótipos variantes combinados em pacientes com hábito acentuado de fumar foi observada após a correção de interação entre variáveis pela análise multivariada.

A frequência dos genótipos combinados AG e GG tendeu a ser mais comum em pacientes com hábito acentuado de fumar do que em controles (41,9% *versus* 28,2%; $P=0,05$; OR= 1,84).

O genótipo heterozigoto (AG) foi também mais comum em pacientes com etilismo moderado ou acentuado do que naqueles que não ingeriam bebida alcoólica ou o faziam em pequenas quantidades, quando a análise univariada foi utilizada. Entretanto, similaridade de frequências foi observada após a comparação entre grupos pela análise multivariada. Frequências similares do genótipo heterozigoto foram também observadas em pacientes e controles (34,3% *versus* 25,4%, $P=0,16$; OR= 1,53).

5.3.6 Genótipos do polimorfismo A4889G em pacientes estratificados por 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 16.

Tabela 16 – Frequência dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em 142 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço estratificados por aspectos anatomo-patológicos e biológicos do tumor

Variáveis	n	Polimorfismo A4889G				
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA + AG n (%)	AG + GG n (%)
Localização do tumor	142					
Cavidade oral	29	21 (72,4)	7 (24,1)	1 (3,4)	28 (96,5)	10 (34,5)
Faringe	67	41 (67,2)	24 (35,8)	2 (3,0)	65 (97,0)	26 (38,8)
Laringe	37	25 (67,6)	8 (21,6)	4 (10,8)	33 (89,2)	12 (32,4)
Cavidade nasal e seios	9	7 (77,8)	2 (22,2)	0 (0,0)	9 (100,0)	2 (22,2)
Valor de <i>P</i>			0,18		0,47	0,32
Grau de diferenciação*	128					
Bem + moderadamente	103	62 (60,2)	34 (33,0)	7 (6,8)	96 (67,6)	41 (39,8)
Pouco + indiferenciado	25	19 (76,0)	6 (24,0)	0 (0,0)	25 (17,6)	6 (24,0)
Valor de <i>P</i>			0,28		0,34	0,17
Estágio TNM*	138					
I + II	34	19 (55,9)	11 (32,4)	4 (11,8)	30 (88,2)	15 (44,1)
III + IV	103	70 (68,0)	30 (29,1)	3 (2,9)	100 (97,1)	33 (32,0)
Valor de <i>P</i>			0,10		0,06	0,22

AA: genótipo selvagem em homozigose, AG: genótipo heterozigoto, GG: genótipo variante em homozigose, *: os números de pacientes diferiram do total inserido no estudo (142) porque não nos foi possível identificar o grau de diferenciação e o estágio do tumor em alguns indivíduos

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*, isolados ou combinados, em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados pela localização, grau de diferenciação e estádios do tumor.

6 DISCUSSÃO

O câncer de cabeça e pescoço é o sexto câncer mais freqüente em localização anatômica e a terceira causa mais comum de morte por câncer no Brasil (Wünsch, 2002; INCA, 2005). O CEC de cabeça e pescoço, incluindo a cavidade oral, orofaringe, hipofaringe, e laringe, compreendem cerca de cinco por cento de todos os cânceres em homens e dois por cento em mulheres dos EUA (Lang *et al.*, 2004)

Em todo o mundo, o câncer bucal é estimado como sendo o sexto tipo de câncer mais comum, sendo portanto um câncer com alta incidência mundial, particularmente na Índia, onde atinge o seu valor máximo (Boyle *et al.*, 1992). Ocorre porém, que a incidência das neoplasias malignas de cavidade oral difere substancialmente em diferentes regiões do mundo, e este fato se deve possivelmente aos diferentes hábitos dos indivíduos de populações distintas, às diferentes expectativas de vida e educação preventiva e ainda, à qualidade dos relatórios médicos e estatísticas nos diferentes países (Damm & Bouquot, 1998; Wünsch, 2002). Estes aspectos justificam a realização deste estudo no Brasil, tendo como objetivo o conhecimento de características próprias da doença em nosso meio.

Wünsch (2002), que realizou um estudo epidemiológico deste tipo de câncer, verificou que as taxas de incidência do CEC de cavidade oral e faringe foram maiores em países desenvolvidos, como os da Europa, do que em países em desenvolvimento. Porém, o câncer de cavidade oral foi também o mais comum em países do sul da Ásia, como a Índia. Incidências intermediárias deste tipo de câncer foram observadas em países da América Latina e Caribe.

A incidência do CEC de cabeça e pescoço, a sobrevida de seus portadores e a mortalidade a ele atribuída são dinâmicos, e parecem variar com a idade, o sexo e a raça dos grupos estudados (Morse *et al.*, 2006).

Quanto os nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço foram distribuídos por idade, observamos que apresentaram média de idade de 58 anos, confirmando as observações relatadas em outros estudos no Brasil (Ribeiro *et al.*, 2003; Durazzo *et al.*, 2005; Biselli *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006) e em países europeus (Evans *et al.*, 2004; Bernardi *et al.*, 2005), asiáticos (Chen *et al.*, 2004) e norte-americanos (Lang *et al.*, 2004),

nos quais este tipo de tumor acomete indivíduos com idade maior do que 40 anos, sendo a maioria dos casos identificados em indivíduos com idade maior do que 50 anos (Mehrota *et al.*, 2003; Bernardi *et al.*, 2005).

Quanto os nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço foram distribuídos por sexo, observamos o predomínio da doença em homens, de forma semelhante a outros estudos realizados em nosso país (Ribeiro *et al.*, 2003; Evans *et al.*, 2004; Gaudet *et al.*, 2004; Durazzo *et al.*, 2005; Biselli *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006).

Levando-se em consideração a dificuldade de se avaliar os indivíduos por raça apenas pela avaliação do biótipo dos mesmos, como realizado neste estudo, ainda mais numa população como a brasileira, que é altamente heterogênea e composta predominantemente por indivíduos miscigenados (Alves *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2001), a distribuição dos nossos casos por raça mostrou que a doença ocorreu predominantemente em caucasóides, de forma semelhante às descrições obtidas em outros países (Gaudet *et al.*, 2004; Lang *et al.*, 2004).

Observamos que a maioria dos pacientes com CEC de cabeça e pescoço inseridos em nosso estudo eram tabagistas e etilistas. A associação do tabagismo com o risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço, foi observada de forma consistente em inúmeros outros estudos (Wünsch, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Evans *et al.*, 2004; Lang *et al.*, 2004; Biselli *et al.*, 2006), nos quais cerca de 75 a 90% dos casos eram tabagistas e etilistas.

O tabagismo e a exposição ao álcool parecem agir sinergicamente para aumentar o risco de desenvolvimento ao CEC, constituindo as principais causas dos tumores. É difícil avaliar o efeito individual destes agentes na etiologia do CEC de cabeça e pescoço, pois os indivíduos fumantes tendem a ser os mesmos a consumir álcool e vice-versa (Abbas *et al.*, 2004; Durazzo *et al.*, 2005).

O benzopireno, um importante HPA presente no tabaco, são capazes de induzir lesões e mutações no DNA de células epiteliais da cavidade oral, faringe e laringe e, assim, determinar o CEC de cabeça e pescoço (Hayes *et al.*, 2005). Já o álcool pode atuar na origem destes tumores diretamente como um fator irritante da mucosa ou atuar indiretamente, promovendo má nutrição e imunodeficiência (Kowalski, 2006). O etanol das

bebidas alcólicas é metabolizado a acetaldeído, que é a substância responsável pelo principal efeito tóxico do álcool na doença (Brennan *et al.*, 2004).

Em relação ao padrão alimentar, a distribuição dos pacientes deste estudo mostrou que a doença ocorreu em cerca da metade daqueles que tinham uma ingestão abaixo da preconizada de frutas e vegetais, sugerindo que a dieta carente destes alimentos pode interferir na origem do CEC de cabeça e pescoço mas, de forma menos consistente que o tabagismo e o etilismo. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos (Slaterry *et al.*, 2000, Brennan *et al.*, 2004).

Também observamos predominância da doença em indivíduos com pequena ingestão de cereais, 83,1%, sugerindo talvez que este grupo de alimentos possa ter importância na prevenção do CEC de cabeça e pescoço. Confirmando os achados deste estudo, há relatos que dizem que a dieta deficiente em frutas e vegetais é também um fator de risco reconhecido para o desenvolvimento do CEC de cabeça e pescoço, e de acordo com Vecchia *et al.* (1997), seria a causa mais provável em cerca de 10 a 15% dos casos de câncer oral diagnosticados em europeus. Brennan *et al.* (2004) observaram um aumento do risco de CEC em indivíduos com dietas carentes em frutas frescas e vegetais, fontes de folato e vitaminas A e C. Também observaram, em contraste, que o alto consumo de carnes salgadas e defumadas parecem representar um importante fator de risco para a doença, por serem fontes de HPAs. Ainda, Gaudet *et al.* (2004) observaram que o consumo de gorduras saturadas pode estar envolvido com o aumento do risco ao CEC de cabeça e pescoço.

O sítio mais freqüente do CEC em nossos casos foi na faringe. A incidência do CEC de cabeça e pescoço em seus diferentes sítios, varia bastante em indivíduos dos vários continentes do mundo. A localização mais prevalente em populações européias de alto risco é a faringe (orofaringe e hipofaringe), como em nosso estudo. A região mais acometida entre os indianos e norte americanos é a cavidade oral (língua e soalho bucal). A freqüência de acometimento da região de laringe também é relativamente alta em países da Europa central e do sul (Espanha, Polônia, Croácia), sul do Brasil, Uruguai, Argentina e Estados Unidos (Brennan *et al.*, 2004).

Quanto os nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço foram distribuídos por aspectos anátomo-patológicos do tumor, observamos que cerca de 80% deles foram

classificados como bem ou moderadamente diferenciados e apenas 20% deles como pouco ou indiferenciados. Frequências similares de tumores bem ou moderadamente diferenciados foram descritos por Mori *et al.* (1998).

A distribuição de nossos pacientes por estágio da doença mostrou que cerca de 50% dos casos apresentaram o tumor em sua forma mais avançada (estádio IV), de acordo com descrições prévias (Durazzo *et al.*, 2005; O Sullivan *et al.*, 2005).

Há duas explicações plausíveis para o fato de a maioria dos pacientes com CEC de cabeça e pescoço chegarem aos hospitais de referência com a doença em estádios avançados. A pouca abrangência das campanhas de prevenção ao câncer, a carência de profissionais de saúde preparados para diagnosticar precocemente as lesões iniciais e encaminhar os pacientes para os centros especializados e a falta de serviços públicos de referência no tratamento do CEC de cabeça e pescoço constituem a primeira explicação (Durazzo *et al.*, 2005). Vale a pena comentar que muitas vezes o despreparo dos profissionais de saúde durante a avaliação da cavidade oral, faz passarem despercebidas as lesões potencialmente malignas (displasias epiteliais). Estas, consideradas como fatores potenciais de risco ao câncer oral, quando não identificadas podem evoluir para câncer, embora nem todas as lesões evoluam para o câncer oral (Gupta *et al.*, 1986). Alternativamente, um alto potencial de invasividade do tumor pode determinar o rápido avanço de um tumor em seu portador (Costa *et al.*, 2005).

Os pacientes do nosso estudo apresentaram tumores avançados (III e IV), mas com tipos histológicos predominantemente menos agressivos. Estes achados parecem indicar a falta de correlação entre o estágio clínico e o comportamento biológico do tumor, de acordo com os resultados do estudo conduzido por Lopes *et al.* (2002). Em contraste, Costa *et al.* (2005) encontraram relação direta entre os tumores pouco diferenciados e estádios avançados em seus pacientes, o que não pareceu acontecer na totalidade de nossos casos.

Em seu conjunto, os resultados deste estudo indicaram que os pacientes com CEC de cabeça e pescoço da nossa amostra apresentaram características clínicas e anátomo-patológicas e biológicas do tumor semelhantes as de outros países de vários continentes, e portanto, constituíram um grupo representativo da doença em nosso meio.

Quando os controles, doadores de sangue, avaliados em nosso estudo foram distribuídos de acordo com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, observamos que as frequências das deleções isoladas ou combinadas dos genes foram similares às obtidas em indivíduos saudáveis de outras cidades do Estado de São Paulo e Minas Gerais (Arruda *et al.*, 1998, Biselli *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006). Estes resultados indicam que os controles estudados pareceram representativos da população geral desta região do país.

Observamos ainda, que as frequências das deleções isoladas ou combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, obtidas em controles do nosso estudo, foram também similares às descritas para populações americanas e européias (Hayes & Pulford, 1995; Abbas *et al.*, 2004; Evans *et al.*, 2004; Gajecka *et al.*, 2005) e africanas (Nelson *et al.*, 1995). Entretanto, estas frequências foram menores do que as descritas em indivíduos de países asiáticos (Nelson *et al.*, 1995; Pisani *et al.*, 2006). Assim, a heterogeneidade racial encontrada no Brasil parece não ter influenciado, de forma significativa, as frequências destes genes em amostras da nossa população.

Encontramos frequências similares da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles, de acordo com resultados de estudos anteriores (Tanimoto *et al.*, 1999; McWilliams *et al.*, 2000; Figueras *et al.*, 2002; Hahn *et al.*, 2002; Brennan *et al.*, 2004; Evans *et al.*, 2004; Unal *et al.*, 2004; Biselli *et al.*, 2006; Sugimura *et al.*, 2006; Cha *et al.*, 2007). Entretanto, um excesso da deleção homozigótica do gene *GSTM1* foi observada em pacientes com CEC de cabeça e pescoço comparados a controles em vários outros estudos (Kato *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 1999; Hanna *et al.*, 2001; Shama *et al.*, 2002; Hashibe *et al.*, 2003; Gajecka *et al.*, 2005; Malgorzata *et al.*, 2005; Bendjemana *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2006; Gattás *et al.*, 2006; Minardi *et al.*, 2006).

Também observamos frequências similares da deleção homozigótica do gene *GSTT1* em nosso estudo e em inúmeros outros (Kato *et al.*, 1999; McWilliams *et al.*, 2000; Hanna *et al.*, 2001; Figueras *et al.*, 2002; Shama *et al.*, 2002; Xie *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2005; Malgorzata *et al.*, 2005; Biselli *et al.*, 2006; Minardi *et al.*, 2006; Sugimura *et al.*, 2006). Intrigantemente, Evans *et al.* (2004) observaram a deleção homozigótica do gene

GSTT1 como um fator de proteção contra o câncer de cabeça e pescoço. O aparente efeito protetor da deleção do gene foi também identificado em outros estudos que abordaram outros cânceres, como o de rim e o de próstata. Abbas *et al.* (2004) confirmaram estes resultados para o câncer de esôfago. A associação entre a deleção do gene *GSTT1* e o carcinoma renal é de fácil compreensão. O risco de carcinoma renal aumenta com a exposição a pequenos compostos halogenados, como o diclorometano ou tricloroetileno, que são ativados à substâncias eletrofílicas pela enzima codificada pelo gene *GSTT1*. Assim, a deleção homozigótica do gene parece impedir a ativação dos carcinógenos que determinam a doença e, portanto, funciona como proteção à doença. Entretanto, o papel destas substâncias halogenadas na carcinogênese esofágica não foi demonstrada até o momento. É possível que a exposição à estes compostos na doença, seja determinada por exposição ocupacional a estes agentes ou à fumaça do cigarro.

As frequências das deleções homozigóticas combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram similares em nossos pacientes e controles, de acordo com descrições prévias (Canalle *et al.*, 2004; Biselli *et al.*, 2006), porém contrariando outras descrições (Gronau *et al.*, 2003; Ladero *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005).

Quanto os genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram avaliados em nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por características clínicas, como idade, sexo, raça, hábito de fumar ou padrão alimentar, não observamos diferenças nas frequências das deleções homozigóticas isoladas ou combinadas dos genes.

Shama *et al.* (2002) também não observaram diferenças entre as frequências de idade, sexo e raça em pacientes com a deleção do gene *GSTM1*. Já Liu *et al.* (2005) observaram maior frequência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes cujo CEC de cabeça e pescoço foi identificado em idade mais avançada. Park *et al.* (2000) observaram que a deleção homozigótica do gene *GSTM1* foi mais comum em negróides do que em caucasianos com CEC de cabeça e pescoço. Em contraste, Gaudet *et al.* (2004) não observaram diferenças entre as frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CEC de diferentes grupos étnicos. Por outro lado, Shama *et al.* (2002) encontraram um aumento no risco de CEC de cabeça e pescoço em tabagistas com a

deleção homozigótica do gene *GSTM1* na Índia. Atribuíram o fato à conhecida grande quantidade de benzopireno nos cigarros indianos comparados aos cigarros ocidentais.

Observamos em nosso estudo apenas uma tendência para a associação entre a deleção homozigótica do gene *GSTM1* em pacientes etilistas de hábito moderado ou acentuado. É possível que o número de pacientes com CEC de cabeça e pescoço com hábitos moderado ou acentuado de ingerir bebida alcoólica avaliados em nosso estudo (108) não tenha sido suficiente para identificar o impacto da deleção do gene *GSTM1* na doença. Estudos em casuísticas maiores são necessários para a obtenção de conclusões consistentes sobre o assunto.

O álcool não é substrato para as GSTs. Apesar disto, Lee *et al.* (2006) observaram uma associação significativa entre ingestão de bebida alcólica, CEC de cabeça e pescoço e deleção homozigótica do gene *GSTM1*. Tal fato poderia ser explicado pela concomitância de tabagismo e etilismo em pacientes com a doença. Ainda, o álcool pode potencializar a formação de adutos de benzopirenos e, assim, poderia ter contribuído para a origem da doença em indivíduos com a deleção dos genes avaliados por Lee *et al.* (2006).

Encontramos distribuição similar de freqüências dos genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes estratificados por padrão da dieta, sugerindo que a maior ou menor ingestão dos diferentes tipos de alimentos não pareceram alterar os efeitos dos genes na origem dos CEC de cabeça e pescoço em nossos casos.

Quanto os genótipos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram avaliados em nossos pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos do tumor, não observamos diferenças de freqüências das deleções homozigóticas dos genes em tumores de diversas localizações e de diversos graus de diferenciação do tumor.

Entretanto, observamos que a freqüência da deleção do gene *GSTM1* em pacientes com a doença do estágio IV foi expressivamente maior do que a observada em pacientes com os estágios I a III do tumor (51,8% versus 20,4%, respectivamente). Os pacientes com a deleção homozigótica do gene *GSTM1* estiveram sob risco quatro vezes maior de apresentar tumor avançado do que os demais. Também observamos que a freqüência da deleção homozigótica do gene *GSTM1* foi expressivamente menor em pacientes com os tumores dos estágios mais localizados (I a III) quando comparados aos

controles (20,4% versus 46,5%). Indivíduos com a presença dos genes estiveram sob risco expressivamente menor (OR= 0,29) de CEC de cabeça e pescoço dos estádios I a III do que os indivíduos com a deleção do gene.

Liu *et al.* (2005) também observaram que os pacientes com a deleção homozigótica do gene *GSTM1* tiveram maior frequência de metástases em linfonodos. Mathias *et al.* (2002), observaram uma maior frequência da deleção *GSTT1* em pacientes com CEC em estádios avançados e pouca diferenciação celular. Em contraste, Shama *et al.* (2002) não observaram associações entre o grau de diferenciação e o estágio do CEC de cabeça e pescoço e os polimorfismos do sistema da GST.

As razões para as diferenças observadas entre os resultados dos vários estudos, que avaliaram o papel destes polimorfismos gênicos na susceptibilidade ao CEC de cabeça e pescoço e em suas associações com variáveis clínicas e anátomo-patológicas do tumor na doença, não são claras. A seleção de amostras, o tamanho das casuísticas, a origem étnica das diferentes populações estudadas, a ocorrência de fatores que possam ter contribuído para a origem do CEC de cabeça e pescoço, como o hábito de fumar, a ingestão de bebidas alcoólicas, o padrão alimentar, o estilo de vida e as anormalidades concomitantes de outros genes, podem ter determinado a inconsistência dos resultados obtidos nos estudos em geral.

Assim, considerando a disparidade dos resultados obtidos nos diferentes estudos em pacientes com CEC de diversos países do mundo, não nos é possível afirmar ou afastar com certeza a hipótese de que as deleções homozigóticas isoladas ou combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* possam ser usadas como fatores de risco ou de proteção para a ocorrência do CEC de cabeça e pescoço ou ainda, que possam influenciar as características clínicas dos pacientes ou anátomo-patológicas ou biológicas do tumor.

Os resultados do nosso estudo nos permitem apenas dizer, que a presença do gene *GSTM1* parece proteger indivíduos da ocorrência do CEC localizado de cabeça e pescoço, enquanto que a deleção homozigótica do gene *GSTM1* parece atuar na agressividade do tumor em indivíduos de nossa região. Estudos adicionais com casuísticas maiores e de diversas áreas do país poderão indicar os papéis exatos dos genes no risco e nas manifestações clínicas da doença no Brasil.

As amostras de pacientes e controles avaliados para o polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e assim, os controles foram adequados para a avaliação das frequências dos diferentes genótipos na população geral e, para a comparação com as frequências obtidas em pacientes com CEC de cabeça e pescoço.

Observamos frequências similares dos genótipos do polimorfismo T6235C do *CYP1A1* em pacientes e controles. Resultados similares foram encontrados em outros estudos (Malgorzata *et al.*, 2005 e Gattás *et al.*, 2006; Sugimura *et al.*, 2006), sugerindo que os genótipos distintos deste polimorfismo gênico não parecem atuar como fatores de risco para a ocorrência do CEC de cabeça e pescoço. Entretanto, maiores frequências dos genótipos variantes do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* foram identificados em pacientes com CEC quando comparados a controles em outros estudos (Sato *et al.*, 1999; Varzim *et al.*, 2003; Gajicka *et al.*, 2005), sugerindo que possam aumentar o risco da doença em portadores do genótipo.

As amostras de pacientes e controles avaliados para o polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e assim, os controles foram adequados para a avaliação das frequências dos diferentes genótipos na população geral e, para a comparação com as frequências obtidas em pacientes com CEC de cabeça e pescoço.

Observamos frequências similares dos genótipos do polimorfismo A4889G do *CYP1A1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço e controles de nosso estudo. Resultados semelhantes foram previamente descritos por alguns autores (McWilliams *et al.*, 2000; Hahn *et al.*, 2002; Xie *et al.*, 2004; Liechsenring *et al.*, 2005) mas, não por outros (Tanimoto *et al.*, 1999; Olshan *et al.*, 2000; Sato *et al.*, 2000; Sreelekha *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2002; Cha *et al.*, 2007). Em conjunto, estes resultados sugerem que a associação dos genótipos do polimorfismo gênico com o risco do CEC de cabeça e pescoço é variável em países diversos.

A combinação do genótipo variante do polimorfismo A4889G ao genótipo variante do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* ou às deleções homozigóticas do gene *GSTM1* e do gene *GSTT1* não pareceu alterar o risco do CEC de cabeça e pescoço no estudo conduzido por Hahn *et al.* (2002). Entretanto, a associação dos genótipos variantes dos polimorfismos A4889G e T6235C do gene *CYP1A1* a alto risco do CEC de cabeça e

pescoço foi observada no estudo conduzido por Malgorzata *et al.* (2005). Gattás *et al.* (2006) também observaram aumento do risco do CEC de cabeça e pescoço em indivíduos com a combinação do genótipo variante do polimorfismo T6235C à deleção homozigótica do gene *GSTM1*.

Análises de associações de genótipos de polimorfismos diversos não foram ainda avaliadas em nosso estudo. Assim, considerando que resultados contraditórios foram observados em estudos conduzidos em indivíduos de diversas partes do mundo, não nos é possível definir com precisão os papéis dos genótipos, isolados ou combinados, dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* na ocorrência do CEC de cabeça e pescoço. Podemos dizer apenas que não parecem importantes no risco da doença em indivíduos de nossa região.

Entretanto, Bolt & Thier (2006) constataram, em revisão da literatura, que há evidências inequívocas de que as interações genéticas e ambientais atuem na carcinogênese do câncer de cabeça e pescoço. Segundo os autores, este câncer é multifatorial e resulta da combinação dos efeitos dos genótipos dos polimorfismos dos genes *CYP1A1*, *GSTM1* e *GSTT1* aos efeitos tóxicos do tabaco e do etanol.

Também não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, isolados ou combinados, em nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar ou ingerir bebidas alcoólicas e padrão da dieta.

Segundo Masserejian *et al.* (2006), a dieta carente em vegetais parece estar associada à ocorrência da doença. O mesmo autor observou que dietas ricas em vegetais e frutas frescas protegem indivíduos contra o desenvolvimento de neoplasias epiteliais, por serem fonte de vitaminas, como a vitamina A e os beta-carotenos. Entretanto, até onde atinge o nosso conhecimento, não há estudos sobre a associação do padrão da dieta e os genótipos dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* na origem do CEC de cabeça e pescoço.

Também não foram encontradas diferenças de frequências dos genótipos do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, isolados ou combinados, em nossos pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados pelo grau de diferenciação e estádios do tumor.

Entretanto, a frequência dos genótipos variantes combinados (TC e CC) do gene *CYP1A1* foi expressivamente menor em pacientes com câncer da laringe, sugerindo que este genótipo atue como um fator de proteção para o CEC de laringe. Varzim *et al.* (2003) observaram uma maior frequência do genótipo variante do polimorfismo T6235C em pacientes com CEC de laringe, principalmente em fumantes, contradizendo os resultados observados neste estudo.

Não foram observadas diferenças entre as frequências dos genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes com CEC de cabeça e pescoço estratificados por idade, sexo e raça, como no estudo realizado por Hahn *et al.* (2002).

Também não observamos diferenças significativas de frequências dos genótipos distintos do polimorfismo gênico, isolados ou combinados, em pacientes estratificados por hábito de fumar ou ingerir bebida alcoólica e padrão da dieta, sugerindo que não alteram o risco do CEC em nossos pacientes com diferentes hábitos de fumar ou beber e ingerir alimentos diversos em nossa região.

Já é de muito conhecido que o álcool é uma das principais causas do desenvolvimento do CEC de cabeça e pescoço, principalmente quando ingerido em altas doses, podendo alterar inclusive a integridade e a permeabilidade da mucosa oral, e assim, aumentar a penetração dos produtos da fumaça do cigarro e de demais carcinógenos em potencial na mucosa (Huang *et al.*, 2003; Brennan *et al.*, 2004). Ainda, Gaudet *et al.* (2004) observaram que o consumo de gorduras saturadas pode estar envolvido com o aumento do risco ao CEC de cabeça e pescoço.

De fato, a quase totalidade de nossos pacientes foram tabagistas e etilistas e cerca de 80% dos nossos casos ingeriram carnes em quantidades preconizada ou maior que a preconizada, o que indica que o tabaco, o álcool e as proteínas e gorduras contribuíram para a carcinogênese do tumor em indivíduos da nossa região. Entretanto, aparentemente, não agiram de forma sinérgica com os diferentes genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* na amostra avaliada.

Quanto os genótipos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* foram avaliados em nossos pacientes estratificados por aspectos anátomo-patológicos e biológicos

do tumor, observamos frequências similares dos genótipos, isolados ou combinados, em pacientes com tumores de localização, grau de diferenciação e estádios clínicos diversos.

Até onde atinge o nosso conhecimento, não há avaliações publicadas sobre o papel do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* nos aspectos próprios do CEC de cabeça e pescoço. Assim só podemos dizer que, não pareceram influenciar a localização, a diferenciação e a invasividade do tumor em nossos casos.

Assim, considerando a disparidade dos resultados obtidos nos diferentes estudos ou da carência de estudos sobre os papéis dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* em manifestações clínicas do CEC em indivíduos de diversos países do mundo, não nos é possível afirmar ou afastar com certeza a hipótese de que os genótipos possam atuar como fatores de risco ou de proteção para grupos específicos de pacientes ou alterar as características próprias do tumor, como localização, diferenciação e invasividade.

Podemos apenas dizer que os genótipos variantes do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1* parecem proteger indivíduos de nossa região do câncer de laringe. Já os genótipos distintos do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1* não parecem alterar as manifestações clínicas da doença em nosso meio. Estudos adicionais com casuísticas maiores e de diversas áreas do país poderão indicar os papéis exatos dos genes no risco e nas manifestações clínicas da doença no Brasil.

Pesquisas futuras deverão ser realizadas no intuito de se esclarecer melhor as interações genético-ambientais e o exato papel que desempenham os polimorfismos genéticos na carcinogênese de cabeça e pescoço, visto que há uma grande diversidade de resultados versando sobre o assunto, e visando obter-se informações mais consistentes.

7 CONCLUSÕES

A similaridade entre as frequências das deleções homozigóticas isoladas e combinadas dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, em pacientes e controles, sugere que estes polimorfismos gênicos não alteram o risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço nos casos estudados.

A similaridade entre as frequências das deleções homozigóticas dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, isolados e combinados, em pacientes estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar e ingerir bebida alcoólica, padrão da dieta, localização e grau de diferenciação do tumor, sugere que os polimorfismos gênicos não alteram as características clínicas e anátomo-patológicas do tumor em nossos casos. Entretanto, a frequência reduzida da deleção homozigótica do gene *GSTM1*, em pacientes com estádios mais localizados do tumor, e a frequência aumentada da deleção homozigótica do gene *GSTM1*, em pacientes com tumores avançados, indicam que a presença do gene *GSTM1* parece proteger indivíduos da ocorrência do CEC localizado de cabeça e pescoço, enquanto que a deleção homozigótica do gene *GSTM1* parece atuar na agressividade do tumor em nossos casos.

A similaridade entre as frequências dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1* encontrada em pacientes e controles, indica que os diferentes genótipos não influenciam o risco de ocorrência do CEC de cabeça e pescoço.

A similaridade entre as frequências dos polimorfismos T6235C do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar e ingerir bebidas alcoólicas, grau de diferenciação e estágio do tumor indica que os polimorfismos deste gene não alteram essas características clínicas e anátomo patológicas do tumor. Entretanto, a frequência reduzida dos genótipos variantes, em pacientes com CEC na laringe, indica que parecem proteger indivíduos de nossa região do câncer de laringe.

A similaridade entre as frequências dos polimorfismos A4889G do gene *CYP1A1* em pacientes estratificados por idade, sexo, raça, hábito de fumar e ingerir bebida alcoólica, padrão da dieta, e localização, grau de diferenciação e estágio do tumor, indica que os polimorfismos deste gene não alteram essas características clínicas e anátomo-patológicas do tumor em nossa região.

REFERÊNCIAS *

Abbas A, Delvinquiére K, Lechevrel M, Lebailey P, Gauduchon P, Launoy G, *et al.* *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* and *CYP1A1* genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in a french population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol.* 2004; 10 (23): 3389-3393.

Alves SJ, Silva SM, Guimaraes PE. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000; (67): 444-461.

Amador AG, Righi PD, Radpour S, Everett ET, Weisberger E, Langer M, *et al.* Polymorphisms of xenobiotic metabolizing genes in oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod.* 2002; 93: 440-445.

Arruda VR, Grignolli CE, Gonçalves MS, Soares MC, Menezes R, Saad STO, *et al.* Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) and theta (*GSTT1*) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to enviromental carcinogenesis ? *Clin Genet.* 1998; (54): 210-214.

Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K. Genetic polymorphism of *CYP* genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000; 9 (1): 3-7.

Bendjemana K, Abdennebi M, Gara S, Jmal A, Ghanem A, Touati S, *et al.* Genetic polymorphism of glutathione S-transferases and N-acetyl transferases 2 and nasopharyngeal carcinoma: the Tunisia experience. *Bull Cancer.* 2006; 93 (3): 297-302.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseado no modelo Vancouver. Abreviações dos periódicos em conformidade com o Medline.

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

Bernardi D, Barzan L, Franchin G, Cinelli R, Balestreri L, Tirelli U. Treatment of head and neck cancer in elderly patients: state of the art and guidelines. Crit Rev Oncol Hematol. 2005; 53 (1): 71-80.

Biselli JM, Leal RCAC, Ruiz MT, Bertollo EMG, Maniglia JV, Rossit ARB, *et al.* *GSTT1* and *GSTM1* polymorphism in cigarette smokers with head and neck squamous cell carcinoma. Rev Bras Otorrinolaringol. 2006; 72 (5): 654-658.

Bolt HM & Thier R. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases *GSTT1* and *GSTM1* in pharmacology and toxicology. Curr Drug Metab. 2006; 7 (6): 613-628.

Bowen DT, Frew ME, Rollinson S. *CYP1A1*2B* (Val) allele is overrepresented in a subgroup of acute myeloid leukemia patients with poor-risk karyotype associated with *NRAS* mutation, but not associated with *FLT3* internal tandem duplication. Blood. 2003; 101: 2770-2774.

Boyle P, Macfarlane GJ, Zheng T, Maisonneuve P, Evsfifeeva T, Scully C. Recent advances in epidemiology of head and neck cancer. Curr Opin Oncol. 1992; 4: 471-477.

Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Coordenação de Orientação Alimentar. Manual da Pirâmide dos Alimentos. Brasília, 1997.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2006: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2005. Disponível em <http://www.inca.gov.br>.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância. A Situação do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2006.

Brennan P, Lewis S, Hashibe M, Bell DA, Boffetta P, Bouchardy C, *et al.* Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: a huGE review. *Am J Epidemiol.* 2004; 159 (1): 1-16.

Cabelguenne A, Lorient MA, Stucker I, Blons H, Koum-Besson E, Brasnu D, *et al.* Glutathione associated enzymes in head and neck squamous cell carcinoma and response to cisplatin based neoadjuvant chemotherapy. *Int J Cancer.* 2001; 93 (5): 725-731.

Caly DN, Cheter EZ, Rapoport A, Nonogaki S. Expressão do P53 no carcinoma epidermóide de lábio. *Rev Col Bras Cir.* 2007; 34: 2-10.

Canalle R, Burim RV, Tone LG, Takahashi CS. Genetic polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Mol Mutagen.* 2004; 43 (2): 100-109.

Cascorbi I, Brockmoller J, Roots IA. C4887A polymorphism in exon 7 of human *CYP1A1*: population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility. *Cancer Res.* 1996; (56): 4965-4969.

Carvalho SDR, Santos FR, Rocha J, Pena SD. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet.* 2001; (68): 281-286.

Cha IH, Park JY, Chung WY, Choi MA, Kim HJ, Park KK. Polymorphisms of *CYP1A1* and *GSTM1* genes and susceptibility to oral cancer. *Yonsei Med J.* 2007; 48 (2): 233-239

Chen PH, Ko YC, Yang YH, Lin YC, Shieh TY, Chen CH, *et al.* Important prognostic factors of long-term oropharyngeal carcinoma survivors in Taiwan. *Oral Oncol.* 2004; 40: 847-855.

Cheng L, Sturgis EM, Eicher SA, Char D, Spitz MR, Wei Q. Glutathione-S-transferase polymorphisms and risk of squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Int J Cancer.* 1999; 84 (3): 220-224.

Cheng YJ, Chien YC, Hildesheim A, Hsu MM, Chen IH, Chuang J, *et al.* No association between genetic polymorphisms of *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *NAT2*, and nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12 (2): 179-185.

Comstock KE, Sanderson BJS, Clafin G, Hener WD. *GST1* gene deletion determined by polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res.* 1990; (18): 3670-3691.

Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics.* John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque; 1971.

Correa L, Frigerio MLMA, Souza SCOM, Novelli MD. Oral lesions in elderly population: a biopsy survey using 2250 histopathological records. *Gerodontology.* 2006; 23: 48-54.

Costa LLA, Júnior FAR, Ramos CFC. Correlação entre a classificação clínica TNM e as características histológicas de malignidade do carcinoma epidermóide oral. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2005; 71 (2): 181-187.

D'aló F, Voso MT, Guidi F. Polymorphisms of *CYP1A1* and glutathione S-transferase and susceptibility to adult acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2004; 89: 664-670.

Damm N & Bouquot A. Patologia Epitelial. Em: Patologia Oral e maxilofacial. 1998; 287-296.

Duarte ECB, Silva MSL, Gomez MV, Gomez RS. *GSTM1* polymorphism and oral leukoplakia. J Oral Pathol Med. 2006; 35: 202-205.

Duell EJ, Holly EA, Bracci PM. A population-based, case-control study of polymorphisms in carcinogen-metabolizing genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma Risk. J Natl Cancer Inst. 2002; 94 (4): 297-306.

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

Durazzo MD, Araújo CEN, Brandão Neto JS, Potenza AS, Costa P, Takeda F, *et al.* Clinical and epidemiological features of oral câncer in a medical school teaching hospital from 1994 to 2002: incidence in women, predominance of advanced local disease, and low incidence of neck metastase. Clinics. 2005; 60 (4): 293-298.

Evans AJ, Henner WD, Eilers KM, Montalto MA, Wersinger EM, Andersen PE, *et al.* Polymorphisms of *GSTT1* and related genes in head and neck cancer risk. Head & Neck. 2004; 26 (1): 63-70.

Ferruzzi E, Franceschini R, Cazzolato G, Geroni C, Fowst C, Pastino U, *et al.* Blood glutathione as a surrogate marker of cancer tissue glutathione S-transferase activity in non-small cell lung cancer and squamous cell carcinoma of the head and neck. Eur J Cancer. 2003; 39 (7): 1009-1019.

Figueras TJ, Gene M, Gomez CJ, Pique E, Borrego N, Caballero M, *et al.* Microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase polymorphisms in relation to laryngeal carcinoma risk. Cancer Lett. 2002; 187 (1-2): 95-102.

Freedman AN, Michalek AM, Marshall JR, Mettlin CJ, Petrelli NJ, Zhang ZF. The relationship between smoking exposure and p53 overexpression in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 1996; 73: 902-908.

Gajecka M, Rydzanicz M, Sztul RJ, Kujawski M, Szyfter W, Szyfter K. *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *NAT2*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of laryngeal squamous cell carcinoma. *Mutation Research*. 2005; 574: 112-123.

Gallegos-Hernandez JF. Head and Neck cancer: risk factor and prevention. *Cir Cir*. 2006; 74 (4): 287-294.

Gattás GJF, Carvalho MB, Siraque MS, Curioni OA, Kohler P, Eluf JN, *et al*. Genetic polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, and *GSTT1* associated with head and neck cancer. *Head & Neck*. 2006: 819-826.

Gaudet MM, Olshan AF, Poole C, Weissler MC, Watson M, Bell DA. Diet, *GSTM1* and *GSTT1* and head and neck cancer. *Carcinogenesis*. 2004; 25 (5): 735-740.

Gajecka M, Rydzanicz M, Jaskula-Sztul R, Kujawski M, Szyfter W, Szyfter K. *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *NAT2*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma. *Mutat Res*. 2005; 574(1-2):112-123.

Gleich LL, Collins M, Gartside S, Gluckman JL, Barrett WL, Wilson KM, *et al*. Therapeutic decision making in stages III and IV head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129: 26-35.

Golas SM. Trends in palatine tonsillar cancer incidence and mortality rates in the United States. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007; 35: 98-108.

Greene FL, Page D, Morrow M, Balch C, Haller D, Fritz A *et al.* *AJCC Cancer Staging Manual* 6.ed. Philadelphia, Lippincott. 2004. p.33-103.

Greger DK, Riechelmann H, Wittich U, Gronau S. Genotype and phenotype of glutathione-S-transferase in patients with head and neck carcinoma. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 2004; 130 (6): 718-725.

Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M. Cancer de cabeça e pescoço. In: *Manual de Estadiamento do Câncer: AJCC.* 6.ed. Porto Alegre, AGE: Assessora Gráfica e Editorial Ltda. 2004. p.33-103.

Gronau S, Koenig-Greger D, Jerg M, Riechelmann H. Gene polymorphisms in detoxification enzymes as susceptibility factor for head and neck cancer? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 28 (5): 674-680.

Guerrero IM, Pessoa CHC, Olmedo DB, Pontes ERP, Matos LC, Tilli TM, *et al.* Analysis of inherited genetic variants in ret proto-oncogene of brazilian patients with apparently sporadic medullary thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2006; 16 (1): 9-15.

Hahn M, Hagedorn G, Kuhlisch E, Schackert HK, Eckelt U. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cavity cancer. *Oral Oncol.* 2002; 38: 486-490.

Hanna E, Macleod S, Vural E, Lang N. Genetic deletions of glutathione S-transferase as a risk factor in squamous cell carcinoma of the larynx: a preliminary report. *Am J Otolaryngol.* 2001; 22 (2): 121-123.

Hashibe M, Brennan P, Strange RC. Meta-and pooled analyses of *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, and *CYP1A1* genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; (12): 1509-1517.

Hashibe M, Boffetta P, Zridze D, Shangina O, Dabrowska NS, Mates D, *et al.* Contribution of tobacco and alcohol to the high rates of squamous cell carcinoma of the supraglottis and glottis in central Europe. *Am J Epidemiol.* 2007; 165: 814-820.

Hayes J. & Pulford D. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of *GST* and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1995; 30 (6): 445-600.

Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione Transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 51-88.

Holland JF, Frei E, Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast RCJ *et al.* *Cancer Medicine*, 6 ed. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc; 2003.

Hong YJ, Lee JK, Lee GH, Hong SI. Influence of glutathione S-transferase *M1* and *T1* genotypes on larynx cancer risk among Korean smokers. *Clin Chem lab Med.* 2000; 38 (9): 917-919.

Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque; 1989.

Huang WY, Winn DM. Alcohol concentration and risk of oral cancer in Puerto Rico. *American J Epidemiol.* 2003; 157 (10): 881-887.

Hung HC, Chuang J, Chien YC, Chern HD, Chiang CP, Kuo YS, Hildesheim A, Chen CJ. Genetic polymorphisms of *CYP2E1*, *GSTM1*, and *GSTT1*; environmental factors and risk of oral cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997; 6 (11): 901-905.

Jahnke V, Matthias C, Fryer A, Strange R. Glutathione S-transferase and cytochrome P-450 polymorphism as risk factors for squamous cell carcinoma of the larynx. *Am J Surg.* 1996; 172 (6): 671-679.

Jahnke V, Strange R, Matthias C, Fryer A. Glutathione S-transferase and cytochrome P450 genotypes as risk factors for laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1997; 254 (Suppl 1): S1 47-49.

Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer Statistics, 2003. *CA Cancer J Clin.* 2003; 53 (1): 5-26.

Jiang JH, Jia WH, Qin HD, Liang H, Pan ZG, Zeng YX. Expression of cytochrome P450 enzymes in human nasopharyngeal carcinoma and non cancerous nasopharynx tissue. *Ai Zheng.* 2004; 23 (6): 672-679.

Joseph T, Kusumakumary P, Chacko, P. Genetic polymorphism of *CYP1A1*, *CYP2D6*, *GSTM1* and *GSTT1* and susceptibility to acute lymphoblastic leukaemia in Indian children. *Pediatr Blood Cancer.* 2004; 43 (5): 560–567.

Jourenkova N, Reinikainen M, Bouchardy C, Dayer P, Benhamou S, Hirvonen A. Larynx cancer risk in relation to glutathione S-transferase *M1* and *T1* genotypes and tobacco smok. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7 (1):19-23.

Kao SY, Wu CH, Lin SC, Yap SK, Chang CS, Wong YK, *et al.* Genetic polymorphism of cytochrome P4501A1 and susceptibility to oral squamous cell carcinoma and oral

precancer lesions associated with smoking/betel use. *J Oral Pathol Med.* 2002; 31 (9): 505-511.

Katoh T, Kaneko S, Kohshi K, Munaka M, Kitagawa K, Kunugita N, *et al.* Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and oral cavity cancer. *Int J Cancer.* 1999; 83 (5): 606-609.

Konig-Greger D, Riechelmann H, Wittich U, Gronau S. Genotype and phenotype of glutathione s-transferase in patients with head and neck carcinoma. *Otolaryngol head Neck Surg.* 2004; 130 (6): 718-725.

Kowalski LP, Guimarães GC, Salvajoli JV; Feher O; Antoneli CBG. Manual de Condutas Diagnósticas e Terapêuticas em Oncologia. Hospital A. C. Camargo, 3. ed. Âmbito; 2006.

Kuralay F & Yildiz T. Urinary thioether excretion and erythrocyte glutathione S-transferase activities in smokers and patients with squamous cell laryngeal cancer. *J Toxicol Environ Health A.* 2001; 64 (6): 447-452.

Ladero JM, Martinez C, Martin EG, Arquero MF, Alonso GL, Concha EGD *et al.* Polymorphisms of the glutathione S-transferase um-1 (*GSTM1*) and theta-1 (*GSTT1*) and the risk of advanced alcoholic liver disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterol.* 2005; 40 (3): 348-353.

Lafuente A, Maristany M, Arias C, Cuchi A, Lafuente MJ, Molina R. Glutathione and glutathione S-transferases in human squamous cell carcinomas of the larynx and *GSTM1* dependent risk. *Anticancer Res.* 1998; 18 (1A): 107-111.

Lang K, Menzin J, Earle CC, Jacobson JMA, Hsu MA. The economic cost of squamous cell cancer of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004; 130 (11): 1269-1275.

Leichsenring A. Investigação de polimorfismos dos genes *CYP1A1* e *GSTP1* em portadores de tumores de cavidade bucal. [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2005.

Li L, Lin P, Deng YF, Zhu ZL, Lu HH. Relationship between susceptibility and prognosis of laryngeal cancer and genetic polymorphisms in *CYP1A1* and *GSTM1*. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2004; 39 (1): 2-7.

Lippman S & Hong WK. Molecular markers of the risk of oral câncer. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1323-1326.

Liu CJ, Chang CS, Liu MT, Dang CW, Shih YH, Chang KW. Association of *GST* genotypes with age of onset and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2005; 34 (8) : 473-477.

Lopes MA, Nikitakis NG, Reynolds MA, Ord RA, Sauk J. Biomarkers predictive of lymphonode metastases in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxill Surg*. 2002; 60: 142-147.

Malgorzata R, Malgorzata W, Marzena G, Wiltol S, Krzystof S. The impact of genetic factors on the incidence of multiple primary tumors (MPT) of head and neck. *Cancer Lett*. 2005; 224 (2): 263-278.

Marques CF, Koifman S, Koifman RJ, Boffetta P, Brennan P, Hatagima A. Influence of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM3* and *NAT2* genetic polymorphisms in oral cancer susceptibility: results from a case-control study in Rio de Janeiro. *Oral Oncol*. 2006; 42 (6): 632-637.

Maserejian NN, Giovannucci E, Rosner B, Joshipura K. Prospective study of vitamins C, E and A and carotenoids and risk of oral premalignant lesions in men. *Int J Cancer*. 2006; 120: 970-977.

Masson LF, Sharp L, Cotton SC, Little J. Cytochrome P-450 *IA1* gene polymorphisms and risk of breast cancer: A huge review. American Journal of Epidemiology. 2005; 161 (10): 901-915.

Mathias C, Bockmühl U, Jahnke V, Petersen I, Dietel M, Fryer A, *et al.* Effect of gene polymorphism on detoxifying glutathione-S-transferase enzymes on chromosomal stability of squamous epithelial carcinomas in the area of the head-neck. Laryngorhinootologie. 1998; 77 (4):201-206.

Mathias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC. Influence of glutathione S-transferase and cytochrome P450 polymorphisms on prognosis of head and neck cancer. Laryngorhinootologie. 2002; 81 (6): 406-412.

Mathias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC. First results on the influence of polymorphisms at glutathione S-transferase, cytochrome P450, and tumor necrosis factor gene loci on the multiple head and neck cancer. Laryngorhinootologie. 2003; 82 (1): 25-30.

Mathias C, Harreus V, Strange R. Influential factors on tumor recurrence in head and neck cancer patients. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2006; 263 (1): 37-42.

McWilliams JE, Evans AJ, Beer TM, Andersen PE, Cohen JJ, Everts EC, Henner WD. Genetic polymorphisms in head and neck cancer risk. Head Neck. 2000; 22 (6): 609-617.

Mehrota R, Singh M, Kumar D, Pandey AN, Gupta RK, Sinha US. Age specific incidence rate and pathological spectrum of oral cancer in Allahabad. Indian J Med Sci. 2003; 57 (9): 400-404.

Mendenhall WM, Riggs JCE, Cassisi NJ. Treatment of head and neck cancer. In: De Vita JVT, Hellman S, Rosenberg AS. Cancer: Principles & Practice of Oncology, 7 ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2005. p.662-732.

Minard CG, Spitz MR, Wu X, Hong WK, Etzel CJ. Evaluation of glutathione S-transferase polymorphism and mutagen sensitivity as risk factors for the development of second primary tumors in patients previously diagnosed with early-stage head and neck cancer. *Cancer*. 2006; 106 (12): 2636-2644.

Miyamoto S, Hirata K, Sugimoto S, Harada K, Mitaka T. Expression of cytochrome P450 enzymes in hepatic organoid reconstructed by rat small hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 20 (6): 865-872.

Mori S, Nose M, Morikawa H, Sato A, Saito T, Song ST, *et al*. A novel evaluation system of metastatic potential of oral squamous cell carcinoma according to the histopathological and histochemical grading. *Oral Oncol*. 1998; 34 (6): 549-557.

Morita S, Yano M, Tsujinaka T, Akiyama Y, Taniguchi M, Kaneko K, *et al*. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to head-and-neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer*. 1999; 80 (5): 685-688.

Morita S, Yano M, Shiozaki H, Tsujinaka T, Ebisui C, Morimoto T, *et al*. *CYP1A1*, *CYP2E1* and *GSTM1* polymorphisms are not associated with susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer*. 1997; 71 (2): 192-195.

Morse DE & Kerr AR. Disparities in oral and pharyngeal cancer incidence, mortality and survival among black and white americans. *JADA*. 2006; 137: 203-212.

Nair U, Bartsch H. Metabolic polymorphisms as susceptibility markers for lung and oral cavity cancer. *IARC Sci Publ*. 2001; 154: 271-290.

Nagaraj NS, Beckers S, Mensah JK, Waigel S, Vigneswaran N, Zacharias W. Cigarette smoke condensate induces cytochromes P450 and aldo-keto reductases in oral cancer cells. *Toxicol Lett*. 2006; 165 (2): 182-194.

National Institute On Alcohol Abuse And Alcoholism (NIAAA) N° 30 PH 359, 1995.
Alcohol Res Health. 2000; 24 (1): 1-11.

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

Nerbert DW & Dalton TP. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis. *Nature Reviews*. 2006; 6: 947-960.

Neville BD, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral & Maxilofacial*. Guanabara Koogan S.A.; 1998.

Olshan AF, Weissler MC, Watson MA, Bell DA. *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*, and *NAT1* polymorphisms, tobacco use, and the risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9 (2): 185-191.

Ophuis OMB, Lieshout EM, Roelofs HM, Peters WH, Manni JJ. Glutathione S-transferase *M1* and *T1* and cytochrome P4501A1 polymorphisms in relation to the risk for benign and malignant head and neck lesions. *Cancer*. 1998; 82 (5): 936-943.

Ophuis OMB, Manni JJ, Peters WH. Glutathione S-transferase T1 null polymorphism and risk for head and neck cancer. *Acta Otolaryngol*. 2006; 126 (3): 311-317.

O'Sullivan EM. Oral and pharyngeal cancer in Ireland. *Ir Med J*. 2005; 98 (4): 102-105.

Oyama T, Isse T, Kagawa N, Kinaga T, Kim YD, Morita M, Sugio K, Weiner H, Yasumoto K, Kawamoto T. Tissue-distribution of aldehyde dehydrogenase 2 and effects of the *ALDH2* gene-disruption on the expression of enzymes involved in alcohol metabolism. *Front Biosci*. 2005; 10: 951-960.

Parise O, Janot F, Luboinski B, Massaad L, Albin N, Toussaint C, Verjus MA, Bonnay M, Gouyette A, Chabot GG. Thymidylate synthase activity, folates, and glutathione system in head and neck carcinoma and adjacent tissues. *Head Neck*. 1994; 16 (2): 158-164.

Park JY, Muscat JE, Ren Q, Schantz SP, Harwick RD, Stern JC, *et al.* *CYP1A1* and *GSTM1* polymorphisms and oral cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6 (12): 1108-1115.

Park LY, Muscat JE, Kaur T, Schantz SP, Stern JC, Richie JP, *et al.* Comparison of *GSTM1* polymorphisms and risk for oral cancer between african-americans and caucasians. *Pharmacogenetics*. 2000; 10 (2): 123-131.

Patel BP, Raval GN, Rawal RM, Patel JB, Sainger RN, Patel MM, *et al.* Serum glutathione S-transferase and glutathione reductase activity in head and neck cancer patients. *Neoplasma*. 2002; 49 (4): 260-266.

Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, *et al.* Human glutathione S-transferase theta (*GSTT1*): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J*. 1994; 300: 271-276.

Pereira ADN, Moreira JC, Dias AEXO, Arbilla G, Ferreira LFV, Oliveira AS, *et al.* Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitratos (NHPAs): uma revisão metodológica. *Química Nova*. 2000; 23 (6): 765-773.

Quiñones L, Lucas D, Godoy J. *CYP1A1*, *CYP2E1* and *GSTM1* genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. *Cancer Lett*. 2001; 174: 35-44.

Rawal RM, Patel DD, Patel BP, Patel MM, Wadhwa MK, Patel PS, *et al.* Assessment of glutathione S-transferase and glutathione reductase in patients with squamous cell carcinoma of buccal mucosa. *Int J Cancer*. 1999; 83 (6): 727-731.

Ray A. Cancer preventive role of selected dietary factors. *Indian J Cancer*. 2005; 42 (1): 15-24.

Ribeiro KCB, Kowalski LP, Latorre MRDO. Perioperative complications, comorbidities, and survival in oral or oropharyngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129: 219-228.

Ronchetti D, Weglia CB, Cesana BM, Carboni N, Neri A, Pruneri G, *et al.* Association between P53 gene mutations and tobacco and alcohol exposure in laryngeal squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 130 (3): 303-306.

Rydzanicz M, Wierzbicka M, Gajecka M, Szyfter W, Szyfter K. The impact of genetic factors on the incidence of multiple primary tumors (MPT) of the head and neck. *Cancer Lett*. 2005; 224 (2): 263-269.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SF, Higuchi R, Horn GT, *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1998; 239: 487-491.

São Paulo. Secretaria do Estado da saúde. Registro de Hospitalar de Câncer, Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP). Estimativa 2006: incidência de câncer no estado de São Paulo. São Paulo, 2005. Disponível em <http://www.fosp.saude.sp.gov.br>.

Sato M, Sato T, Izumo T, Amagasa T. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. *Carcinogenesis*. 1999; 20 (10): 1927-1935.

Sato M, Sato T, Izumo T, Amagasa T. Genetically high susceptibility to oral squamous cell carcinoma in terms of combined genotyping of *CYP1A1* and *GSTM1* genes. *Oral Oncol.* 2000; 36 (3): 267-273.

Seremak MA, Drews K, Semczuk A. *CYP1A1* alleles in female genital cancers in the Polish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 118: 246-250.

Shama CB, Perin NN, Rajani AB. Polymorphism at *GSTM1*, *GSTM3* and *GSTT1* gene loci and susceptibility to oral cancer in an Indian population. *Carcinogenesis.* 2002; 23 (5): 803-807.

Sidransky D. Molecular Biology of Head and Neck Tumors. In: De Vita JVT, Hellman S, Rosenberg AS. *Cancer: Principles & Practice of Oncology.* 7 ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2005. p.653-662.

Slattery ML, Kampman E, Samowitz W, Caan BJ, Potter JD. Interplay between dietary inducers of *GST* and the *GSTM-1* genotype in colon cancer. *Int J Cancer.* 2000; 87: 728-733.

Sobti RC, Kaur S, Kaur P, Singh J, Gupta I, Jain V *et al.* Interaction of passive smoking with *GST* (*GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1*) genotypes in the risk of cervical cancer in India). *Cancer Genetics Cytogenetics.* 2006; 166: 117-123.

Sreelekha TT, Ramadas K, Pandey M, Thomas G, Nalinakumari KR, Pillai MR. Genetic polymorphism of *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* genes in Indian oral cancer. *Oral Oncol.* 2001; 37 (7): 593-601.

Sugimura T, Kumimoto H, Tohnai I, Fukui T, Matsuo K, Tsurusako S, *et al.* Gene-environment interaction involved in oral carcinogenesis: molecular epidemiological study for metabolic and DNA repair gene polymorphisms. *J Oral Pathol Med.* 2006; 35: 11-8.

Tanimoto K, Yoshiga M, Ichikawa T. Polymorphism of the *CYP1A1* and *GSTM1* gene involved in oral squamous cell carcinoma in association with cigarette dose. *Oral Oncol.* 1999; 35: 191-196.

Ullrich D, Münzel PA, Beck-Gscheidmeier S, Schröder M, Bock KW. Drug-metabolizing enzymes in pharyngeal mucosa and in oropharyngeal cancer tissue. *Biochem Pharmacol.* 1997; 54 (10): 1159-1164.

Unal M, Tamer L, Ates NA, Akbas Y, Pata YS, Vayisoglu Y *et al.* Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 gene polymorphism in laryngeal squamous cell carcinoma. *Am J Otolaryngol.* 2004; 25 (5): 318-322.

Usarek E, Kloniecki M, Osuch-Wojcikiewicz E, Bruzgielewicz A, Kukwa W, Kukwa A, *et al.* Expression of glutathione S-transferase isoenzymes in larynx cancer. *Otolaryngol Pol.* 2004; 58 (5): 895-898.

Varzim G, Monteiro E, Silva RA, Fernandes J, Lopes C. *CYP1A1* and *XRCC1* gene polymorphisms in SCC of the larynx *Eur J Cancer Prev.* 2003; 12 (6): 495-498

Vecchia CL, Tavani A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri E. Epidemiology of Oral Cancer. *Oral Oncol.* 1997; 33 (5): 302-312.

Wang J, Deng Y, Li L. Association of *GSTM1*, *CYP1A1* and *CYP2E1* genetic polymorphisms with susceptibility to lung adenocarcinoma: A case-control study in Chinese population. *Cancer Sci.* 2003; 94: 448-452.

Wang S, Yang D. Small molecule antagonists of *BCL-2* family proteins. The Regents of the University of Michigan Patent Cooperation Treaty Application (European Patent Office), 2002.

Woodhead JL, Fallon R, Figuered H, Longdale J, Malcom AD. Alternative methodology of gene diagnosis. In: Davies, K.E. Human Genetic Diseases: A practical Approach. Oxford: IRL Press; 1986. p.51-64.

Wünsch FV. The epidemiology of oral and pharynx cancer in Brazil. *Oral Oncol.* 2002; 38: 737-746.

Xie H, Hou L, Shields PG, Winn DMAi Zheng. Metabolic polymorphisms, smoking, and oral cancer in Puerto Rico. *Oncol Res.* 2004; 14 (6): 315-320.

Yukako I, Nobukazu F, Minoru K, Takeshi K, Kazuhisa F, Hiroyuki T, *et al.* Treatment results of stage I oral tongue cancer with definitive radiotherapy. *Oral Oncol.* 2005; 41 (5): 520-525.

ANEXOS

Anexo 1

Recordatório de frequência alimentar a ser aplicado a pacientes do estudo “Polimorfismo dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, do Sistema da Glutathione S-Transferase, e T6235C e A4889G do Gene *CYP1A1*, do Sistema do Citocromo P450, na Susceptibilidade ao Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço”.

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) Frequência no almoço

Dobra a quantidade porção (repetição)

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

b) Frequência 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) Frequência diária

Frutas:

3) Observações:

Anexo 2

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da cavidade oral para a categoria T

Categorias	Descrições
Categoria T	Tumor
Tx	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
<i>Tis</i>	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor se estende 2 cm ou menos na sua maior dimensão
T2	Tumor se estende mais que 2 cm, mas não mais que 4 cm na sua maior dimensão
T3	Tumor ultrapassa 4 cm em sua maior dimensão
T4a (lábio)	Tumor que invade estruturas adjacentes, como: cortical óssea, nervo alveolar inferior, soalho de boca, ou pele da face, como queixo ou nariz
T4a (cav oral)	Tumor que invade estruturas adjacentes, como cortical óssea, músculos profundos/extrínsecos da língua (genioglosso, hioglosso, palatoglosso e estiloglosso), seio maxilar e/ou pele da face
T4b (lábio e cav oral)	Tumor que invade o espaço mastigador, lâminas pterigóides, ou base do crânio e/ou envolve artéria carótida interna

Anexo 3

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da cavidade oral para as categorias N e M

Categoria N	Linfonodos Regionais
Nx	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais de 3 cm mas não mais de 6 cm na sua maior dimensão ou em múltiplos linfonodos homolaterais com não mais que 6 cm na sua maior dimensão ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral com mais que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2c	Metástases em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em linfonodo com mais que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
Mx	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M ₀	Sem metástases distantes
M ₁	Metástases à distância

Anexo 4

Grupos de estadiamento e características TNM do câncer da cavidade oral

Estádio	Código
Estádio 0	T _{is} , N0, M0
Estádio I	T1, N0, M0
Estádio II	T2, N0, M0
Estádio III	T3, N0, M0
	T1, N1, M0
	T2, N1, M0
	T3, N1, M0
	T4a, N0, M0
Estádio IVA	T4a, N1, M0
	T1, N2, M0
	T2, N2, M0
	T3, N2, M0
	T4a, N2, M0
	Qualquer T, N3, M0
Estádio IVB	T4a, qualquer N, M0
	Qualquer T, qualquer N, M1
Estádio IVC	

Anexo 5

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da nasofaringe para a categoria T

Categoria T	Tumor
T _x	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T ₀	Nenhuma evidência de tumor primário
T _{is}	Carcinoma <i>in situ</i>
T ₁	Tumor confinado a nasofaringe
T ₂	Tumor se estende aos tecidos moles
T2a	Tumor se estende à orofaringe e/ou a cavidade nasal sem extensão parafaríngea*
T2b	Todo tumor com extensão parafaríngea*
T ₃	Tumor que invade estruturas ósseas e/ou seios paranasais
T ₄	Tumor se estende intracranialmente e/ou envolve nervos cranianos, fossa infratemporal, hipofaringe, órbita ou espaço mastigador

Anexo 6

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da nasofaringe, para as categorias N e M

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase unilateral em linfonodo(s) de 6 cm ou menos na sua maior dimensão, acima da fossa supra clavicular
N ₂	Metástase bilateral em linfonodos(s) com não mais que 6 cm na sua maior dimensão, acima da fossa supra clavicular
N ₃	Metástase em linfonodo(s)** maior(es) que 6 cm e/ou em fossa supra clavicular
N _{3a}	Metástase em linfonodo maior que 6 cm em dimensão
N _{3b}	Extensão para fossa supraclavicular
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M ₀	Sem metástases distantes
M ₁	Metástases à distância

*Notar: A extensão parafaríngea indica infiltração póstero-lateral do tumor além da fáscia faringo-basilar

** Os linfonodos de linha média são considerados linfonodos homolaterais

Anexo 7

Grupos de estadiamento e características TNM do câncer da nasofaringe

Estádio	Código
Estádio 0	T _{is} , N0, M0
Estádio I	T1, N0, M0
Estádio IIA	T2a, N0, M0
Estádio IIB	T1, N1, M0
	T2, N1, M0
	T2a, N1, M0
	T2b, N0, M0
	T2b, N1, M0
Estádio III	T1, N2, M0
	T2a, N2, M0
	T2b, N2, M0
	T3, N0, M0
	T3, N1, M0
	T3, N2, M0
Estádio IVA	T4, N0, M0
	T4, N1, M0
	T4, N2, M0
Estádio IVB	Qualquer T, N3, M0
Estádio IVC	Qualquer T, Qualquer N, M1

Anexo 8

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da orofaringe
para a categoria T

Categoria T	Tumor
Tx	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor com não mais de 2 cm na sua maior dimensão
T2	Tumor maior que 2cm e com não mais que 4 cm na sua maior dimensão
T3	Tumor maior que 4 cm na sua maior dimensão
T4a	Tumor que invade qualquer das seguintes estruturas: a laringe, músculos profundos/extrínsecos da língua(genioglosso, hioglosso, palatoglosso e estiloglosso), pterigóide medial, palato duro e mandíbula
T4b	Tumor invadindo músculo pterigóide lateral, lâminas pterigóideas, nasofaringe lateral, ou base do crânio ou adjacentes a artéria carótida

Anexo 9

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da orofaringe
para as categorias Ne M

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases à distância

Anexo 10

Grupos de estadiamento e características TNM do câncer da orofaringe e hipofaringe

Estádio	Código
Estádio 0	T _{is} , N0, M0
Estádio I	T1, N0, M0
Estádio II	T2, N0, M0
Estádio III	T3, N0, M0
	T1, N1, M0
	T2, N1, M0
	T3, N1, M0
Estádio IVA	T4a, N0, M0
	T4a, N1, M0
	T1, N2, M0
	T2, N2, M0
	T3, N2, M0
	T4a, N2, M0
Estádio IVB	T4b, qualquer N, M0
	Qualquer T, N3, M0
Estádio IVC	Qualquer T, qualquer N, M1

Anexo 11

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da hipofaringe para a categoria T

Categoria T	Tumor
Tx	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
<i>Tis</i>	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado a uma sub-localização anatômica da hipofaringe e com não mais que 2 cm na sua maior dimensão
T2	Tumor invadindo mais que uma sub-localização anatômica da hipofaringe ou uma localização anatômica adjacente ou medindo mais que 2 cm mas não mais que 4 cm na sua maior dimensão, sem fixação da hemilaringe
T3	Tumor maior que 4 cm na sua maior dimensão ou com fixação da hemilaringe
T4a	Tumor invadindo qualquer das seguintes estruturas: cartilagem tireóide/cricóide , osso hióide, glândula tireóide, esôfago, ou compartimento central de partes moles*
T4b	Tumor invadindo fáscia pré-vertebral, envolvendo artéria carótida ou invadindo estruturas mediastinais

Anexo 12

CrITÉRIOS de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da hipofaringe
para as categorias N e M

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais com não mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase � distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases � distância

As partes moles do compartimento central incluem a alça muscular pr -laríngea (NT-omo-hi ideo, esterno-tireo-hi ideo e tireo-hi ideo) e gordura subcutânea

Anexo 13

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da região supraglótica da laringe para a categoria T

Categoria T	Tumor
Tx	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor limitado a uma sub-localização anatômica da supraglote com mobilidade normal da corda vocal
T2	Tumor invadindo a mucosa de mais de uma sub-localização anatômica adjacente da supraglote ou glote ou região externa à supraglote (por ex: mucosa da base da língua, a valécula, a parede medial do seio piriforme) sem fixação da laringe
T3	Tumor limitado à laringe com fixação da corda vocal e/ou invadindo qualquer uma das seguintes estruturas: área pós-cricoide, tecidos pré epiglóticos, espaço para-glótico, e/ou com erosão mínima da cartilagem tireóide(ex:córtex interna)
T4a	Tumor invadindo toda a cartilagem tireóide e/ou estendendo-se aos tecidos além da laringe(por ex: traquéia, partes moles do pescoço, incluindo músculos profundos/extrínsecos da língua, alça muscular, tireóide e esôfago)
T4b	Tumor invadindo espaço pré-vertebral ou estruturas mediastinais ou adjacentes a artéria carótida

Anexo 14

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da região supraglótica da laringe para as categorias N e M

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M ₀	Sem metástases distantes
M ₁	Metástases à distância

Anexo 15

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para o câncer da região glótica da laringe para a categoria T

Categoria T	Tumor
T _x	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T ₀	Nenhuma evidência de tumor primário
T _{is}	Carcinoma <i>in situ</i>
T ₁	Tumor limitado à corda(s) vocal(ais) (pode envolver a comissura anterior ou posterior) com mobilidade normal da(s) corda(s)
T1a	Tumor limitado a uma corda vocal
T1b	Tumor envolve ambas as cordas vocais
T2	Tumor que se estende à supraglote e/ou subglote, e/ou com mobilidade diminuída da corda vocal
T3	Tumor limitado à laringe, com fixação da corda vocal e/ou que invade o espaço para-glótico, e/ou com erosão mínima da cartilagem tireóide(ex:córtex interna)
T4a	Tumor que invade completamente a cartilagem tireóide e/ou se estende aos tecidos além da laringe(ex:traquéia, tecidos moles do pescoço, etc)
T4b	Tumor invade espaço pré-vertebral, estruturas mediastinais ou adjacentes a artéria carótida

Anexo 16

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para para as categorias N e M do
câncer da região glótica da laringe

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases à distância

Anexo 17

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para para a categoria T do
câncer da região subglótica da laringe

Categoria T	Tumor
T _x	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T ₀	Nenhuma evidência de tumor primário
T _{is}	Carcinoma <i>in situ</i>
T ₁	Tumor limitado à subglote
T ₂	Tumor que se estende à corda(s) vocal(ais) com mobilidade normal ou reduzida da mesma
T ₃	Tumor limitado à laringe com fixação da corda vocal
T _{4a}	Tumor que invade a cartilagem tireóide ou cricóide e/ou se estende a outros tecidos além da laringe(ex:traquéia, tecidos moles do pescoço,etc)
T _{4b}	Tumor invade espaço pré-vertebral, estruturas mediastinais ou adjacentes a artéria carótida

Anexo 18

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para para as categorias N e M do câncer da região subglótica da laringe

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases à distância

Anexo 19

Grupos de estadiamento e características TNM do câncer de cabeça e pescoço, da laringe

Estádio	Código
Estádio 0	T _{is} , N0, M0
Estádio I	T1, N0, M0
Estádio II	T2, N0, M0
Estádio III	T3, N0, M0
	T1, N1, M0
	T2, N1, M0
	T3, N1, M0
Estádio IVA	T4a, N0, M0
	T4a, N1, M0
	T1, N2, M0
	T2, N2, M0
	T3, N2, M0
	T4a, N2, M0
Estádio IVB	T4b, Qualquer N, M0
	Qualquer T, N3, M0
Estádio IVC	Qualquer T, Qualquer N, M1

Anexo 20

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para para categoria T do câncer da cavidade nasal e seio maxilar

Categoria T	Tumor
T _x	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T ₀	Nenhuma evidência de tumor primário
T _{is}	Carcinoma <i>in situ</i>
T ₁	Tumor limitado à mucosa do seio maxilar sem erosão ou destruição de osso
T ₂	Tumor causando erosão ou destruição óssea incluindo extensão para o palato duro e/ou o meato nasal médio, exceto extensão à parede posterior do seio maxilar e lâminas pterigóides
T ₃	Tumor que invade qualquer uma das seguintes estruturas: osso da parede posterior do seio maxilar, tecidos subcutâneos, soalho ou parede medial de órbita, fossa pterigóide, seios etmoidais
T _{4a}	Tumor invade qualquer uma das seguintes estruturas: conteúdo orbitário anterior, pele da bochecha, lâminas pterigóides, fossa infratemporal, lâmina cribiforme, seio esfenoidal ou frontal
T _{4b}	Tumor invade qualquer uma das seguintes estruturas: ápice orbital, duramater, cérebro, fossa craniana média, outros nervos cranianos que não o da divisão maxilar do trigêmio V2, nasofaringe ou clivus

Anexo 21

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para as categorias N e M do
câncer da cavidade nasal e seio maxilar

Categoria N	Linfonodos regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais com não mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases à distância

Anexo 22

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para a categoria T o câncer da cavidade nasal e seio etmoidal

Categoria T	Tumor
Tx	Informações insuficientes para a avaliação do tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor restrito a uma das sub-localizações da cavidade nasal ou seio etmoidal, com ou sem invasão óssea
T2	Tumor que envolve duas sub-localizações de uma única localização ou que se estende para uma localização adjacente dentro do complexo naso-etmoidal, com ou sem invasão óssea
T3	Tumor invade a parede medial ou soalho de órbita, seio maxilar, palato, ou lâmina cribriforme
T4a	Tumor invade qualquer uma das seguintes estruturas: conteúdo orbitário anterior, pele do nariz ou bochecha, extensão mínima para fossa craniana anterior, lâminas pterigóides, seio esfenoidal ou frontal
T4b	Tumor invade qualquer uma das seguintes estruturas: ápice orbital, duramater, cérebro, fossa craniana média, outros nervos cranianos que não seja o da divisão maxilar do trigêmio (V2), nasofaringe, clivus

Anexo 23

Critérios de classificação do sistema de estadiamento TNM para as categorias N e M do
câncer da cavidade nasal e seio etmoidal

Categoria N	Linfonodos Regionais
N _x	Informações insuficientes para a avaliação de linfonodos regionais
N ₀	Linfonodos sem metástases
N ₁	Metástase em um único linfonodo homolateral de 3 cm ou menos na sua maior dimensão
N ₂	Metástase em um único linfonodo homolateral de mais que 3 cm, mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em múltiplos linfonodos homolaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles maior que 6 cm em sua maior dimensão
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral maior que 3 cm mas não mais que 6 cm na sua maior dimensão
N2b	Metástase em múltiplos linfonodos homolaterais com não mais que 6 cm em sua maior dimensão
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais que 6 cm na sua maior dimensão
N3	Metástase em um linfonodo maior que 6 cm na sua maior dimensão
Categoria M	Metástase à distância
M _x	Informações insuficientes para a avaliação de metástases distantes
M0	Sem metástases distantes
M1	Metástases à distância

Anexo 24

Grupos de estadiamento e características TNM do câncer da cavidade nasal e seios paranasais

Estádio	Código
Estádio 0	T _{is} , N0, M0
Estádio I	T1, N0, M0
Estádio II	T2, N0, M0
Estádio III	T3, N0, M0 T1, N1, M0 T2, N1, M0 T3, N1, M0
Estádio IVA	T4a, N0, M0 T4a, N1, M0 T1, N2, M0 T2, N2, M0 T3, N2, M0 T4a, N2, M0
Estádio IVB	T4b, qualquer N, M0 Qualquer T, N3, M0
Estádio IVC	Qualquer T, qualquer N, M1

Anexo 25

Carta de consentimento pós –informação a ser obtida dos pacientes, para participação no estudo intitulado “Polimorfismo dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, do Sistema da Glutathione S-Transferase, e T6235C e A4889G do Gene *CYP1A1*, do Sistema do Citocromo P450, na Susceptibilidade ao Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço”.

Nome do paciente:

Idade:anos

RG: **HC:**

Endereço:.....

.....

Nome do responsável legal (se paciente incapacitado):

.....

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

Endereço:

.....

.....

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei uma amostra de sangue (volume: 10 ml) a ser colhida em veia de um dos braços. Estou ciente de que este sangue será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer de cabeça e pescoço. Estou ciente que um fragmento do tumor retirado para estabelecer o diagnóstico da minha doença será utilizado para a avaliação de características próprias deste tumor. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização destes exames. Sei que posso sentir dor de pequena intensidade e curta duração no local de punção da veia. Sei que terei direito de saber o resultado do meu exame, caso esteja interessado. Sei que posso sair do estudo a qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu

tratamento na UNICAMP. Sei que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador. Estou ainda ciente, que nenhum outro estudo usando o mesmo material será realizado sem a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar a Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, no ambulatório de Oncologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP, Tel: (019) 3788 7496, 3788 7363.

Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP. Tel: (019) 3788 8936/37887187

Tenho a opção ou não de aceitar o armazenamento do material genético por mim fornecido (Resolução 340/04), abaixo relacionada.

() aceito o armazenamento

() não aceito o armazenamento

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

.....
Assinatura do paciente

.....
Assinatura do responsável legal

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas, / /

Anexo 26

Carta de consentimento pós –informação a ser obtida dos controles, para participação no estudo intitulado “Polimorfismo dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, do Sistema da Glutathione S-Transferase, e T6235C e A4889G do Gene *CYP1A1*, do Sistema do Citocromo P450, na Susceptibilidade ao Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço”.

Nome do paciente:

Idade:anos

RG: **Raça:**

Endereço residencial.....

.....

.....

Endereço comercial.....

.....

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual fornecerei informações sobre a ocorrência de câncer de cabeça e pescoço em meus familiares e uma amostra de sangue (volume: 10 ml) a ser colhida em veia de um dos braços. Estou ciente de que este sangue será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de câncer de cabeça e pescoço. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização deste exame. Sei que posso sentir dor de pequena intensidade e curta duração no local de punção da veia. Sei que terei direito de saber o resultado do meu exame, caso esteja interessado. 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 nenhum outro estudo será realizado com o meu sangue sem a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar a Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima,

no ambulatório de Oncologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP, Tel: (019) 3788 7496, 3788 7363.

Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas UNICAMP. Tel: (019) 3788 8936/37887187

Tenho a opção ou não de aceitar o armazenamento do material genético por mim fornecido (Resolução 340/04), abaixo relacionada.

() aceito o armazenamento

() não aceito o armazenamento

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

.....
Assinatura do paciente

.....
Assinatura do responsável legal

.....
Assinatura do pesquisador legal

Campinas, / /

Anexo 27

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
✉ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-8925
🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html
✉ cep@fcm.unicamp.br

CEP, 04/10/05.
(Grupo I)

PARECER PROJETO: N° 446/2005
CAAE: 0241.0.146.000-05

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS DE ALELOS DO SISTEMA DA GLUTATIONA S-TRANSFERASE 1 (GSTM1) E THETA (GSTT1) E CYP1A1*2A E CYP1A1*2B DO GENE CPY1A1 DO SISTEMA DO CITOCROMO P450 NA SUSCETIBILIDADE AO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Érica Furquim Soledade Neves Silva
INSTITUIÇÃO: FCM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 09/03/2005
APRESENTAR RELATÓRIO EM: 23/08/06

II - OBJETIVOS

Avaliar as frequências dos polimorfismos gênicos em uma população de alta heterogeneidade racial e de uma área com alta incidência de câncer. Espera-se com essa pesquisa definir frequências dos polimorfismos dos genes GSTM1, GSTT1 e CYP1A1 em indivíduos de nossa população e verificar se os mesmos estão associados ao carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um projeto de mestrado em Estomatopatologia que vai envolver 100 pacientes com carcinoma epidermóide (CEC) de cabeça e pescoço atendidos por ocasião do diagnóstico ou durante seguimento clínico no ambulatório de Oncologia Clínica da FCM e 100 indivíduos controle doadores atendidos no Hemocentro do HC, pareados por sexo, idade e raça com os pacientes. Serão utilizados dados clínicos e anatomo-patológicos do tumor obtidos de interrogatórios específicos (para dados de identificação, idade, sexo, raça, padrão de dieta, etilismo, hábito de fumar) e dos prontuários e será realizada a genotipagem por reação em cadeia da polimerase (multiplex-PCR) e PCR e digestão enzimática. Os voluntários do grupo em estudo passarão por uma coleta de sangue por punção venosa para a coleta dos exames rotineiros necessários ao diagnóstico, quando vier o HC; o grupo controle será submetido a uma única punção venosa. Essas amostras de sangue periférico serão analisadas no laboratório de Biologia

Molecular do Hemocentro da Unicamp. O orçamento previsto é de R\$ 14.759, 71, para material de consumo e a solicitação foi submetida ao CNPq.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto e os termos de consentimento livre e esclarecido para os pacientes e para o grupo controle estão adequadamente redigidos e dentro das normas. As questões levantadas pelos assessores foram devidamente esclarecidas pela pesquisadora.

Recomendação: corrigir o título do para “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”, o nome do comitê para “Comitê de Ética em Pesquisa/FCM” (e não HC/UNICAMP).

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.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

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.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na VIII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 23 de agosto de 2005.


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

Anexo 28

Distribuição dos 142 pacientes com câncer de cabeça e pescoço, de acordo com a idade, o sexo, a raça e hábito de fumar

Nº Caso	Nome	Idade (anos)	Sexo	Raça	Fumante	Tempo fumo (anos)	Intensidade Tabagismo	Tipo de Cigarro
1	A.D.S.	64	M	N	S	50	M	4
2	A.S.	82	M	C	S	63	M	1
3	A.C.B.	65	M	C	N	0	N	3
4	A.C.F.	57	M	C	S	30	P	1
5	A.C.S.	44	M	C	S	36	P	4
6	A.O.	56	M	N	S	40	M	1
7	A.dd.S.	55	M	N	S	35	M	1
8	A.F.	71	M	C	S	25	M	1
9	A.P.G.	76	M	C	S	60	P	2
10	A.V.C.D.	51	M	C	S	30	P	1
11	A.B.	73	M	C	S	62	P	1
12	A.A.P.	45	M	C	S	30	M	5
13	A.J.S.M.	56	F	C	S	15	M	1
14	B.R.S.	50	M	N	S	15	M	4
15	B.A.T.	47	F	C	S	20	M	1
16	B.F.A.	56	M	C	N	0	N	3
17	B.V.P.	73	M	C	S	50	M	4
18	C.A.	56	M	N	S	18	M	1
19	C.A.R.	47	M	C	S	27	M	1
20	C.P.	53	M	C	S	27	M	1
21	C.R.D.E.	53	M	C	S	30	P	4
22	C.C.	69	M	C	S	20	M	1
23	C.B.	66	M	C	S	50	P	4
24	D.B.S.	60	M	C	S	30	P	1
25	D.N.S.	71	F	C	S	20	M	1
26	D.U.	60	M	C	S	40	M	4
27	D.M.G.	68	M	N	S	58	P	4
28	E.C.O.	73	M	C	S	50	P	1
29	E.M.J.	51	M	C	S	30	P	1
30	E.A.C.	50	M	C	S	35	P	1
31	E.M.	63	M	C	N	0	N	3
32	E.D.J.	68	F	C	N	0	N	3
33	E.A.S.	72	M	C	S	60	P	1
34	F.M.O.	50	M	C	S	37	P	4
35	F.P.G.	41	M	C	S	15	M	4
36	G.S.	62	M	N	S	34	M	1

37	G.M.T.	58	M	N	S	40	P	1
38	G.Z.O.	49	M	N	S	35	N.O.	2
39	H.A.	48	M	C	S	20	M	1
40	H.S.	73	M	C	S	50	M	1
41	I.L.D.	46	M	C	S	20	M	1
42	J.F.	66	M	N	S	60	P	4
43	J.F.J.	68	M	C	S	43	P	1
44	J.G.C.	58	M	C	S	50	P	1
45	J.P.	70	M	C	S	60	P	2
46	J.S.S.	80	M	C	S	70	M	4
47	J.X.O.	78	M	N	S	40	P	2
48	J.J.A.W.	48	M	C	N	0	N	3
49	J.R.S.	52	M	N	S	15	M	1
50	J.C.M.	56	M	N	S	20	M	2
51	J.A.S.	69	M	N	S	45	P	4
52	J.A.S.	46	M	N	S	30	M	1
53	J.A.R.	52	M	N	S	30	P	1
54	J.B.N.S.	60	M	N	S	30	P	4
55	J.B.F.	69	M	N	S	45	P	2
56	J.C.A.	58	M	C	S	32	P	4
57	J.C.O.S.	48	M	C	S	40	P	1
58	J.d.O.	64	M	C	S	40	P	4
59	J.O.	50	M	N	S	20	M	1
60	J.E.O.R.	56	M	C	S	40	P	1
61	J.F.C.	71	M	C	S	50	P	1
62	J.L.P.M.	62	M	C	S	48	P	1
63	J.L.D.	62	M	N	S	52	P	4
64	J.M.L.S.	55	M	C	S	40	M	1
65	J.M.B.T.	61	M	C	S	40	P	1
66	J.R.S.B.	56	M	C	S	46	P	4
67	J.X.	55	M	N	S	40	P	4
68	J.B.	43	M	C	S	25	M	1
69	L.B.	59	M	C	S	50	P	2
70	L.M.	75	M	C	S	45	P	1
71	L.F.R.	59	M	C	S	20	M	1
72	L.G.R.	48	M	C	S	30	M	1
73	M.L.H.	69	M	N	S	40	P	4
74	M.K.	70	M	C	S	70	P	1
75	M.A.G.	51	M	C	S	30	P	1
76	N.C.	69	M	C	S	50	P	2
77	N.P.	62	M	C	S	40	P	1
78	N.F.	69	M	C	S	60	P	2
79	N.L.S.	55	M	C	S	25	M	1
80	N.O.G.	66	M	C	S	55	P	1
81	N.P.S.	62	M	N	S	58	P	4
82	N.T.S.	62	M	N	S	15	M	1
83	O.F.	57	M	C	S	40	P	4

84	O.G.S.C.	47	F	C	S	35	M	1
85	O.D.P.	31	M	N	S	18	M	4
86	O.U.T.	51	M	C	S	12	M	4
87	O.S.	65	M	C	S	50	P	4
88	P.M.E.	50	F	N	S	40	P	1
89	P.L.B.	75	M	C	S	50	M	1
90	R.D.G	59	M	C	S	48	N.O.	2
91	R.F.L.	93	M	C	S	80	P	2
92	R.F.	63	M	C	S	40	M	1
93	R.S.M.	56	M	N	S	40	P	4
94	S.A.L.	49	M	C	S	25	M	1
95	S.A.C.	58	M	N	S	40	P	1
96	S.B.	61	M	C	S	30	P	4
97	S.R.J.L.	43	M	C	S	30	P	1
98	T.I.	73	M	C	S	60	M	1
99	V.M.	44	M	N	S	20	M	1
100	V.E.	48	M	C	S	32	M	1
101	V.V.S.	62	F	C	S	30	M	1
102	W.S.	46	M	N	S	25	M	1
103	J.A.G.	58	M	C	S	30	P	1
104	B.A.A.	55	M	C	S	10	M	4
105	A.Sa	59	M	C	S	36	M	1
106	L.S.R.	48	M	C	S	35	P	1
107	A.P.G.	38	M	C	S	15	M	1
108	J.L.C.	49	M	N	S	35	P	1
109	L.R.A.	52	M	C	S	40	P	2
110	J.A.O.D.A	39	M	C	S	20	M	1
111	L.A.S.A.	55	M	C	S	35	P	4
112	J.S	56	M	C	S	30	P	1
113	A.R.F.	52	M	C	S	32	P	1
114	P.J.C.	57	M	C	S	50	P	4
115	A.C.F.	56	M	C	S	25	M	1
116	M.S.Q.	53	M	C	S	25	M	1
117	J.C.B.	51	M	C	S	30	P	4
118	J.A.R	50	M	C	S	35	P	4
119	A.O.	55	M	C	S	20	M	1
120	J.B.F.	58	M	C	S	35	P	4
121	J.A.A.	66	M	C	S	40	P	1
122	A.J.G.P.	61	M	C	S	35	P	1
123	N.M.	57	M	C	S	30	M	1
124	S.P.O.F.	53	M	C	S	15	M	1
125	J.A.F.	52	M	C	S	40	M	1
126	A.B.	56	M	C	S	20	M	2
127	B.F.A.	63	M	C	S	35	P	1
128	S.J.T.	47	M	C	S	34	M	1
129	A.X.S.	57	M	C	S	30	M	1
130	B.M.	72	M	C	S	65	P	4

131	J.C.C.	51	M	C	S	25	M	1
132	L.C.O.	73	M	C	S	50	P	1
133	J.R.S.F.	66	M	C	S	54	P	2
134	J.A.A.	52	M	C	S	30	P	1
135	C.B.S.	77	M	C	S	15	M	1
136	E.J.M.	48	M	C	S	30	P	1
137	J.C.L.	56	M	C	S	12	M	1
138	L.C.M.	52	M	C	S	40	P	1
139	E.E.F.	47	F	C	S	15	M	1
140	J.A.R.	70	M	C	S	55	P	1
141	P.A.	57	M	C	S	25	M	1
142	J.O.D.	60	M	C	S	30	P	1

C: caucasóide; N: negróide, M: masculino, F: feminino; L: consumo discreto, M: consumo moderado, P: consumo acentuado, N: não fumante, N.O.: informação não obtida, 1: cigarro de filtro, 2: fumo de corda, charuto ou cachimbo, 3: nenhum tipo, 4: 1+2, 5: informação não obtida

Anexo 29

Distribuição dos 142 pacientes com câncer de cabeça e pescoço de acordo com o hábito de ingerir bebidas alcoólicas

Nº Caso	Nome	Usuário Álcool	Tempo Álcool (anos)	Tipo Bebida	Intensidade Etilismo
1	A.D.S.	S	30	2	P
2	A.S.	S	60	2	P
3	A.C.B.	S	40	4	M
4	A.C.F.	N	0	5	N
5	A.C.S.	S	36	4	P
6	A.O.	S	40	2	M
7	A.dd.S.	S	14	1	L
8	A.F.	S	20	1	L
9	A.P.G.	N	0	5	N
10	A.V.C.D.	S	20	4	P
11	A.B.	S	50	2	L
12	A.A.P.	S	30	6	N.O.
13	A.J.S.M.	S	48	4	M
14	B.R.S.	S	36	4	P
15	B.A.T.	N	0	5	N
16	B.F.A.	S	20	2	P
17	B.V.P.	S	25	2	M
18	C.A.	S	25	2	P
19	C.A.R.	S	30	2	P
20	C.P.	N	0	5	N
21	C.R.D.E.	S	25	2	P
22	C.C.	S	12	4	P
23	C.B.	S	40	4	P
24	D.B.S.	S	30	2	M
25	D.N.S.	N	0	5	N
26	D.U.	S	40	2	M
27	D.M.G.	S	30	4	P
28	E.C.O.	S	40	4	M
29	E.M.J.	N.O.	N.O.	6	N.O.
30	E.A.C.	S	10	4	P
31	E.M.	N	0	5	N
32	E.D.J.	N	0	5	N
33	E.A.S.	S	N.O.	4	P
34	F.M.O.	S	30	2	M
35	F.P.G.	S	20	1	L
36	G.S.	N	0	5	N
37	G.M.T.	S	40	2	P

38	G.Z.O.	S	35	2	L
39	H.A.	S	20	1	L
40	H.S.	S	30	2	M
41	I.L.D.	S	20	4	P
42	J.F.	S	40	2	P
43	J.F.J.	S	30	2	P
44	J.G.C.	S	38	4	P
45	J.P.	S	55	4	P
46	J.S.S.	S	70	2	L
47	J.X.O.	S	30	2	L
48	J.J.A.W.	S	25	1	P
49	J.R.S.	S	15	4	L
50	J.C.M.	S	30	2	P
51	J.A.S.	S	30	2	P
52	J.A.S.	S	30	4	P
53	J.A.R.	S	30	4	N.O.
54	J.B.N.S.	S	10	4	P
55	J.B.F.	S	45	2	P
56	J.C.A.	S	8	4	P
57	J.C.O.S.	S	34	2	P
58	J.d.O.	S	40	2	P
59	J.O.	S	20	1	L
60	J.E.O.R.	S	N.O.	4	P
61	J.F.C.	N	0	5	N
62	J.L.P.M.	S	30	2	M
63	J.L.D.	S	48	2	M
64	J.M.L.S.	S	35	2	P
65	J.M.B.T.	S	40	2	P
66	J.R.S.B.	S	46	2	P
67	J.X.	S	20	2	M
68	J.B.	S	18	4	P
69	L.B.	S	50	2	M
70	L.M.	S	60	1	N.O.
71	L.F.R.	S	44	4	N.O.
72	L.G.R.	S	20	4	M
73	M.L.H.	S	40	2	P
74	M.K.	S	14	2	L
75	M.A.G.	S	30	4	M
76	N.C.	S	40	2	P
77	N.P.	S	45	2	P
78	N.F.	S	40	4	M
79	N.L.S.	S	15	2	M
80	N.O.G.	S	15	2	P
81	N.P.S.	S	40	4	M
82	N.T.S.	S	15	2	P
83	O.F.	S	40	4	P
84	O.G.S.C.	N	0	5	N
85	O.D.P.	S	15	6	N.O.

86	O.U.T.	S	20	4	L
87	O.S.	S	50	4	P
88	P.M.E.	S	15	1	M
89	P.L.B.	S	55	2	P
90	R.D.G	S	20	2	P
91	R.F.L.	N	0	5	N
92	R.F.	S	35	4	L
93	R.S.M.	S	20	2	P
94	S.A.L.	S	25	1	P
95	S.A.C.	S	30	4	L
96	S.B.	S	37	4	P
97	S.R.J.L.	S	30	4	P
98	T.I.	S	53	1	M
99	V.M.	S	N.O.	2	N.O.
100	V.E.	S	32	4	P
101	V.V.S.	S	10	2	M
102	W.S.	S	25	2	P
103	J.A.G.	S	10	2	M
104	B.A.A.	S	10	2	P
105	A.Sa	S	30	2	M
106	L.S.R.	S	30	4	P
107	A.P.G.	S	15	1	M
108	J.L.C.	S	30	2	M
109	L.R.A.	S	30	2	P
110	J.A.O.D.A	S	20	2	P
111	L.A.S.A.	S	15	2	M
112	J.S	S	20	1	M
113	A.R.F.	S	30	2	M
114	P.J.C.	S	20	1	P
115	A.C.F.	S	30	4	M
116	M.S.Q.	S	30	2	M
117	J.C.B.	S	15	1	M
118	J.A.R	S	30	1	P
119	A.O.	S	35	4	P
120	J.B.F.	S	35	4	P
121	J.A.A.	S	45	2	P
122	A.J.G.P.	N	0	5	N
123	N.M.	S	35	2	M
124	S.P.O.F.	S	25	2	M
125	J.A.F.	S	50	2	M
126	A.B.	S	30	2	M
127	B.F.A.	S	35	2	M
128	S.J.T.	S	34	2	P
129	A.X.S.	S	30	2	P
130	B.M.	S	67	2	P
131	J.C.C.	S	20	1	M
132	L.C.O	S	55	2	M

133	J.R.S.F.	S	3	2	P
134	J.A.A.	S	15	1	M
135	C.B.S.	S	55	2	M
136	E.J.M.	S	20	2	M
137	J.C.L.	S	30	2	P
138	L.C.M.	S	30	2	P
139	E.E.F.	S	15	1	M
140	J.A.R.	N	0	5	N
141	P.A.	S	25	2	P
142	J.O.D.	S	35	2	M

1: cerveja, 2: destiladas, 3: vinho, 4: dois ou mais tipos de bebida, 5: nenhum tipo de bebida, 6: informação não obtida, L: consumo discreto, M: consumo moderado, P: consumo acentuado, N: não ingerem bebidas alcoólicas, N.O.: informação não obtida

Anexo 30

Distribuição dos 142 pacientes com câncer de cabeça e pescoço quanto ao hábito alimentar

Nº Caso	Nome	Porções Carnes	Porções Vegetais	Porções Frutas	Porções Cereais
1	A.D.S.	P	P	P	B
2	A.S.	P	P	P	B
3	A.C.B.	P	P	P	P
4	A.C.F.	A	A	B	B
5	A.C.S.	P	P	P	P
6	A.O.	P	P	P	P
7	A.dd.S.	A	B	B	B
8	A.F.	B	B	P	B
9	A.P.G.	P	P	P	B
10	A.V.C.D.	P	B	B	B
11	A.B.	B	B	B	B
12	A.A.P.	B	B	B	B
13	A.J.S.M.	A	A	P	P
14	B.R.S.	P	P	B	B
15	B.A.T.	P	P	B	B
16	B.F.A.	B	B	B	B
17	B.V.P.	P	P	B	B
18	C.A.	B	B	B	B
19	C.A.R.	P	A	B	P
20	C.P.	B	B	B	B
21	C.R.D.E.	P	B	B	B
22	C.C.	B	B	B	B
23	C.B.	P	B	B	B
24	D.B.S.	B	B	B	B
25	D.N.S.	B	P	B	B
26	D.U.	B	P	P	B
27	D.M.G.	P	A	P	P
28	E.C.O.	P	P	P	B
29	E.M.J.	A	P	P	B
30	E.A.C.	P	P	P	P
31	E.M.	P	P	P	B
32	E.D.J.	B	P	P	P
33	E.A.S.	P	P	P	P
34	F.M.O.	P	B	B	B
35	F.P.G.	P	B	P	B
36	G.S.	P	B	B	B
37	G.M.T.	P	P	B	B
38	G.Z.O.	P	B	B	B
39	H.A.	B	P	P	P

40	H.S.	P	P	P	B
41	I.L.D.	P	P	B	P
42	J.F.	B	P	P	B
43	J.F.J.	P	B	P	B
44	J.G.C.	B	B	B	B
45	J.P.	P	P	P	B
46	J.S.S.	P	P	P	P
47	J.X.O.	P	B	B	B
48	J.J.A.W.	B	P	B	B
49	J.R.S.	P	P	P	B
50	J.C.M.	P	B	B	B
51	J.A.S.	P	B	B	B
52	J.A.S.	P	P	P	B
53	J.A.R.	P	B	B	B
54	J.B.N.S.	P	P	B	B
55	J.B.F.	P	B	P	B
56	J.C.A.	P	B	P	B
57	J.C.O.S.	B	P	P	B
58	J.d.O.	A	P	P	B
59	J.O.	P	P	B	B
60	J.E.O.R.	A	A	B	P
61	J.F.C.	P	P	P	B
62	J.L.P.M.	B	B	B	B
63	J.L.D.	P	P	P	B
64	J.M.L.S.	P	B	B	B
65	J.M.B.T.	B	B	P	B
66	J.R.S.B.	P	P	B	P
67	J.X.	B	B	B	B
68	J.B.	P	B	B	B
69	L.B.	P	B	P	B
70	L.M.	B	P	P	B
71	L.F.R.	P	B	B	B
72	L.G.R.	P	B	B	B
73	M.L.H.	B	P	P	P
74	M.K.	B	B	B	B
75	M.A.G.	P	P	B	B
76	N.C.	P	B	B	B
77	N.P.	B	B	B	B
78	N.F.	P	P	B	B
79	N.L.S.	P	P	P	B
80	N.O.G.	B	B	B	B
81	N.P.S.	P	P	P	P
82	N.T.S.	A	B	B	B
83	O.F.	P	B	B	B
84	O.G.S.C.	B	P	P	B
85	O.D.P.	P	A	B	B
86	O.U.T.	B	B	B	B
87	O.S.	A	A	B	P

88	P.M.E.	P	P	B	B
89	P.L.B.	P	A	P	P
90	R.D.G	A	A	P	P
91	R.F.L.	P	P	P	B
92	R.F.	P	B	P	B
93	R.S.M.	P	P	B	B
94	S.A.L.	P	B	B	B
95	S.A.C.	B	B	B	B
96	S.B.	P	B	B	B
97	S.R.J.L.	P	P	P	P
98	T.I.	P	P	P	B
99	V.M.	A	B	P	B
100	V.E.	P	B	B	B
101	V.V.S.	P	P	B	B
102	W.S.	P	P	B	B
103	J.A.G.	P	P	P	P
104	B.A.A.	A	B	P	B
105	A.Sa	P	P	P	B
106	L.S.R.	B	P	B	B
107	A.P.G.	P	B	B	B
108	J.L.C.	P	P	B	B
109	L.R.A.	B	B	P	B
110	J.A.O.D.A	P	B	B	B
111	L.A.S.A.	P	P	P	P
112	J.S	P	P	P	B
113	A.R.F.	P	B	B	B
114	P.J.C.	P	P	B	B
115	A.C.F.	B	P	P	B
116	M.S.Q.	P	P	P	B
117	J.C.B.	P	P	B	B
118	J.A.R	A	P	P	B
119	A.O.	P	B	B	B
120	J.B.F.	A	A	A	B
121	J.A.A.	B	P	P	B
122	A.J.G.P.	P	P	P	B
123	N.M.	P	B	P	B
124	S.P.O.F.	P	P	B	B
125	J.A.F.	P	B	P	B
126	A.B.	P	A	A	B
127	B.F.A.	A	B	A	B
128	S.J.T.	P	P	P	B
129	A.X.S.	P	A	P	B
130	B.M.	P	P	B	B
131	J.C.C.	B	P	A	B
132	L.C.O.	A	A	A	P
133	J.R.S.F.	A	P	P	B
134	J.A.A.	P	B	B	B
135	C.B.S.	B	B	B	B

136	E.J.M.	P	B	B	B
137	J.C.L.	P	B	P	B
138	L.C.M.	P	B	P	B
139	E.E.F.	A	A	A	B
140	J.A.R.	P	B	P	B
141	P.A.	A	P	P	P
142	J.O.D.	P	P	P	B

A: maior do que a ingestão preconizada, B: menor do que a ingestão preconizada, P: ingestão preconizada

Anexo 31

Distribuição dos 142 pacientes com câncer de cabeça e pescoço de acordo com a localização, o grau de diferenciação, o estágio TNM do tumor e os genótipos *GSTM1*, *GSTT1* e *CYP1A1*

Caso	Nome	Localização	Grau diferenciação	TNM	GST		CYP1A1	
					<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	T6235C	A4889G
1	A.d.S.	F	N.O.	IV C	DEL	pre	TT	AA
2	A.S.	L	POUCO	I	PRE	del	TT	AA
3	A.C.B.	O	MOD	II	DEL	pre	TT	AG
4	A.C.F.	L	MOD	III	PRE	pre	TT	AA
5	A.C.S.	F	N.O.	IV A	PRE	del	TT	AA
6	A.O.	O	MOD	IV A	PRE	pre	TT	AA
7	A.dd.S.	L	MOD	I	PRE	pre	TT	GG
8	A.F.	F	MOD	II	PRE	pre	TC	GG
9	A.P.G.	L	MOD	IV A	PRE	del	TC	AA
10	A.V.C.D.	F	MOD	III	PRE	pre	TC	AA
11	A.B.	L	BEM	I	PRE	pre	TT	AA
12	A.A.P.	F	MOD	IV B	PRE	pre	TT	AA
13	A.J.S.M.	L	MOD	IV B	DEL	pre	TT	AA
14	B.R.S.	F	POUCO	IV B	PRE	pre	TT	AA
15	B.A.T.	L	N.O.	N.O.	DEL	pre	TT	AA
16	B.F.A.	L	MOD	III	PRE	del	TT	AA
17	B.V.P.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
18	C.A.	O	N.O.	IV A	PRE	pre	TT	AA
19	C.A.R.	F	MOD	II	PRE	del	TT	AA
20	C.P.	O	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
21	C.R.D.E.	L	MOD	III	PRE	pre	TT	AA
22	C.C.	F	MOD	IV A	PRE	pre	TT	AA
23	C.B.	L	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AG
24	D.B.S.	L	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
25	D.N.S.	N	N.O.	N.O.	PRE	pre	TT	AA
26	D.U.	F	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
27	D.M.G.	F	MOD	II	PRE	pre	TC	AA
28	E.C.O.	O	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AA
29	E.M.J.	O	MOD	III	PRE	pre	TT	AA
30	E.A.C.	F	BEM	IV B	DEL	pre	TT	AA
31	E.M.	N	N. O.	IV C	PRE	pre	TC	AG
32	E.D.J.	F	INDIF	IV B	PRE	pre	TC	AA
33	E.A.S.	L	MOD	IV A	PRE	del	TT	AA
34	F.M.O.	F	MOD	IV B	DEL	pre	TT	AA

35	F.P.G.	F	INDIF	IV B	PRE	pre	TT	AA
36	G.S.	L	MOD	IV A	PRE	pre	CC	AA
37	G.M.T.	O	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AG
38	G.Z.O.	L	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
39	H.A.	F	INDIFER	III	PRE	pre	TC	AG
40	H.S.	F	MOD	IV B	PRE	pre	TT	AA
41	I.L.D.	O	N.O.	IV A	PRE	pre	TC	AA
42	J.F.	F	BEM	IV A	PRE	del	TT	AA
43	J.F.J.	L	MOD	IV A	DEL	pre	TC	GG
44	J.G.C.	O	MOD	IV C	PRE	pre	TC	AG
45	J.P.	L	MOD	IV A	PRE	pre	TC	AA
46	J.S.S.	L	MOD	III	PRE	pre	TC	AA
47	J.X.O.	O	INDIF	IV C	PRE	del	TC	AA
48	J.J.A.W.	L	MOD	IV A	PRE	pre	TT	AA
49	J.R.S.	O	N.O.	IV A	PRE	pre	TT	AA
50	J.C.M.	F	MOD	IV A	PRE	pre	CC	AG
51	J.A.S.	F	MOD	IV A	PRE	pre	TT	GG
52	J.A.S.	F	MOD	II	DEL	pre	TT	AA
53	J.A.R.	O	MOD	IV B	PRE	pre	TT	AA
54	J.B.N.S.	F	POUCO	IV A	PRE	del	TT	AG
55	J.B.F.	O	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
56	J.C.A.	L	BEM	I	PRE	pre	TC	AG
57	J.C.O.S.	O	MOD	III	PRE	pre	TT	GG
58	J.d.O.	L	BEM	III	PRE	pre	TT	AG
59	J.O.	N	N.O.	IV C	PRE	pre	TC	AA
60	J.E.O.R.	F	BEM	I	PRE	pre	TC	AG
61	J.F.C.	F	N.O.	N.O	PRE	del	TT	AA
62	J.L.P.M.	F	MOD	IV B	DEL	del	TC	AG
63	J.L.D.	O	BEM	I	PRE	pre	TC	AG
64	J.M.L.S.	F	MOD	I	PRE	del	TT	AG
65	J.M.B.T.	L	BEM	I	PRE	pre	TT	AA
66	J.R.S.B.	L	MOD	II	PRE	pre	TT	AG
67	J.X.	L	MOD	I	PRE	del	TT	GG
68	J.B.	L	MOD	III	PRE	del	TT	AG
69	L.B.	F	BEM	I	PRE	pre	TT	AA
70	L.M.	F	MOD	III	PRE	del	TT	AG
71	L.F.R.	N	POUCO	IV B	PRE	pre	TT	AA
72	L.G.R.	O	MOD	III	PRE	del	TT	AA
73	M.L.H.	L	MOD	IV A	DEL	del	TT	AG
74	M.K.	O	MOD	IV A	PRE	pre	TT	AA
75	M.A.G.	F	MOD	IV A	PRE	pre	TC	AG
76	N.C.	O	POUCO	IV A	DEL	del	TC	AA
77	N.P.	O	MOD	IV A	DEL	del	TC	AG
78	N.F.	O	MOD	II	PRE	del	TT	AA
79	N.L.S.	L	MOD	II	DEL	pre	TT	AG
80	N.O.G.	L	MOD	I	DEL	pre	CC	AA
81	N.P.S.	F	POUCO	IV A	DEL	del	TT	AA
82	N.T.S.	L	N.O.	N.O.	DEL	del	TT	AA

83	O.F.	L	MOD	IV A	PRE	pre	TT	AA
84	O.G.S.C.	N	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
85	O.D.P.	F	POUCO	IV B	DEL	pre	TT	AA
86	O.U.T.	L	BEM	II	DEL	pre	TT	AA
87	O.S.	F	MOD	II	DEL	del	TT	AG
88	P.M.E.	F	MOD	IV B	PRE	pre	TC	AA
89	P.L.B.	F	MOD	II	DEL	pre	TC	AG
90	R.D.G	F	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AG
91	R.F.L.	O	MOD	IV B	DEL	pre	TT	AA
92	R.F.	L	MOD	I	DEL	pre	TT	GG
93	R.S.M.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
94	S.A.L.	F	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
95	S.A.C.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AA
96	S.B.	L	MOD	I	PRE	pre	TT	AA
97	S.R.J.L.	F	MOD	IV A	PRE	del	TT	AG
98	T.I.	O	POUCO	IV B	DEL	pre	TT	AA
99	V.M.	N	N.O.	IV A	PRE	pre	CC	AA
100	V.E.	N	N.O.	N.O.	PRE	pre	TT	AA
101	V.V.S.	F	POUCO	IV B	PRE	pre	TT	AA
102	W.S.	F	POUCO	IV A	DEL	pre	TC	AA
103	J.A.G.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AG
104	B.A.A.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
105	A.Sa	O	MOD	IV B	PRE	pre	TT	AA
106	L.S.R.	F	POUCO	IV B	DEL	pre	TT	AG
107	A.P.G.	F	INDIF	IV B	DEL	pre	TC	AG
108	J.L.C.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AA
109	L.R.A.	F	INDIF	IV B	DEL	pre	TT	AG
110	J.A.O.D.A.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AA
111	L.A.S.A.	F	MOD	IV A	PRE	del	TC	AA
112	J.S	F	POUCO	IV A	DEL	pre	TT	AA
113	A.R.F.	F	INDIF	IV A	DEL	pre	TT	AA
114	P.J.C.	F	BEM	IV B	DEL	pre	TT	AA
115	A.C.F.	L	MOD	II	PRE	pre	TT	AA
116	M.S.Q.	O	MOD	III	PRE	pre	TC	AA
117	J.C.B.	F	MOD	III	DEL	pre	TT	AG
118	J.A.R	F	MOD	IV A	PRE	del	TT	AG
119	A.O.	O	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AG
120	J.B.F.	F	MOD	IV A	PRE	pre	TC	AG
121	J.A.A.	F	INDIF	IV B	DEL	del	CC	AA
122	A.J.G.P.	O	MOD	III	PRE	pre	TC	AA
123	N.M.	F	MOD	III	PRE	del	TC	AA
124	S.P.O.F.	F	MOD	II	DEL	del	TC	AG
125	J.A.F.	L	MOD	II	DEL	del	TT	AA
126	A.B.	L	MOD	III	DEL	pre	TT	AA
127	B.F.A.	L	MOD	II	DEL	pre	TT	AG
128	S.J.T.	F	POUCO	III	PRE	del	TC	AA
129	A.X.S.	O	MOD	IV A	PRE	del	TC	AA
130	B.M.	F	POUCO	IV B	DEL	pre	TC	AA

131	J.C.C.	N	N.O.	IV C	PRE	del	TT	AA
132	L.C.O.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AA
133	J.R.S.F.	F	MOD	IV B	PRE	pre	TC	AG
134	J.A.A.	F	MOD	IV A	DEL	del	TC	AG
135	C.B.S.	L	MOD	III	PRE	pre	CC	AA
136	E.J.M.	N	POUCO	IV A	DEL	pre	TT	AG
137	J.C.L.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AG
138	L.C.M.	F	POUCO	III	PRE	del	TT	AA
139	E.E.F.	F	MOD	IV A	DEL	pre	TT	AG
140	J.A.R.	O	BEM	IV A	DEL	del	TC	AG
141	P.A.	F	INDIF	II	PRE	pre	TC	AA
142	J.O.D.	O	MOD	IV A	DEL	pre	TC	AA

O: cavidade oral, F: faringe, L: laringe, N: cavidade nasal e seios paranasais, MOD: moderadamente diferenciado, BEM: bem diferenciado, POUCO: pouco diferenciado, INDIF: indiferenciado, N.O.: informação não obtida, PRE: indivíduos com os genes *GSTM1* presentes, DEL: indivíduos com deleção homozigótica do gene *GSTM1*, Pre: indivíduos com os genes *GSTT1* presentes, del: indivíduos com deleção homozigótica do gene *GSTT1*, TT: indivíduos com o genótipo selvagem do polimorfismo T6335C do gene *CYP1A1*, TC: indivíduos com o genótipo heterozigoto, CC: indivíduos com genótipo variante em homozigose do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, AA: indivíduos com o genótipo selvagem do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*; AG: indivíduos com o genótipo variante heterozigoto, GG: indivíduos com o genótipo variante em homozigose do gene *CYP1A1*.

Anexo 32

Distribuição dos 142 controles de acordo com a idade, o sexo, raça, hábito de fumar e identificação dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* e dos polimorfismos T6235C e A4889G do gene *CYP1A1*

Caso	Doador	Idade	Sexo	Raça	Tabagismo	<i>GST</i>		<i>CYP1A1</i>	
						<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	T6235C	A4889G
1	MARC	57	F	C	N	del	PRE	TT	AA
2	PBS	51	M	C	N	del	PRE	TT	AA
3	SMS	54	M	N	N	pre	PRE	TT	AA
4	MLVS	57	F	C	N	pre	PRE	TT	AA
6	EPT	59	M	N	N	del	PRE	TC	AA
7	NPS	55	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
8	NGAB	50	F	C	N	del	PRE	TT	AA
9	MVG	57	M	C	N	del	PRE	TT	AA
10	AAG	54	M	C	S	pre	PRE	TT	AA
11	FB	54	M	C	S	pre	PRE	TC	AA
12	WMC	52	M	C	N	del	PRE	TT	AA
13	JFN	59	M	C	S	pre	PRE	TT	AA
15	JC	52	M	C	N	del	PRE	TC	AA
16	CD	54	M	C	N	del	PRE	TT	AA
17	BE	53	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
18	JAS	51	M	N	N.O.	del	PRE	TT	AA
20	JAN	52	M	N	N	pre	DEL	TT	AA
21	MPSL	57	F	C	N	del	PRE	TC	AA
22	JFS	57	M	C	S	del	DEL	TT	AA
23	ART	53	M	C	N	del	DEL	TT	AA
24	NS	56	M	N	S	del	PRE	TT	AA
25	ET	55	M	C	S	del	PRE	TT	AG
25	ET	55	M	C	N	del	PRE	TT	AA
26	JCAN	53	M	N	S	pre	PRE	TC	AA
27	JRC	50	M	C	N.O.	pre	PRE	TT	AA
29	ANP	56	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AA
30	JCS	50	M	C	N	pre	DEL	TT	AA
31	MSS	57	F	N	S	pre	PRE	TT	AA
32	OJ	58	M	C	S	del	PRE	TC	AA
33	VO	50	M	C	N	del	PRE	TT	AA
34	MJS	53	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
35	EGO	57	M	C	N	del	DEL	TT	AA
38	HJM	50	M	C	N	del	PRE	TT	AA
40	MC	55	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
41	MN	53	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AA

42	ADC	52	M	C	N.O.	del	PRE	TC	AA
43	BFPC	58	M	N	N.O.	pre	PRE	TC	AA
44	VPT	50	M	N	N.O.	del	PRE	TC	AA
45	APM	56	M	C	S	del	PRE	CC	AA
46	SR	56	M	C	N	pre	DEL	TT	AA
47	JBBM	51	M	C	N	del	PRE	TT	AA
48	MLS	56	F	C	N	del	PRE	TT	AG
49	MGB	54	M	C	N	del	PRE	TC	AA
50	GPS	51	M	C	N	pre	DEL	TT	AG
51	JS	50	M	N	N.O.	pre	PRE	TT	AA
53	EBN	52	M	C	N	pre	PRE	TC	AG
54	UT	50	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
55	JGS	53	M	C	S	del	PRE	CC	GG
56	JGAS	55	M	C	S	pre	DEL	TC	AG
57	PJS	55	M	C	N	del	PRE	TT	AA
59	DAS	53	M	C	N	pre	DEL	CC	AA
60	PAS	55	M	C	N	del	PRE	TT	AG
64	JPS	55	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AG
71	DAA	50	M	N	S	del	DEL	TT	AA
72	NY	58	M	A	N	pre	PRE	TC	AA
75	JAF	59	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
76	JAC	58	M	C	N.O.	pre	DEL	TC	AA
77	CD	53	M	N	N.O.	pre	PRE	TT	AA
78	AD	52	M	C	N.O.	pre	PRE	TT	AG
80	LGO	57	M	C	S	del	PRE	TT	AG
81	WMS	57	M	C	S	pre	PRE	TC	AA
82	RBAN	56	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AG
85	EB	56	M	C	N	pre	DEL	TC	AG
87	ACF	50	M	C	S	pre	DEL	TT	AA
89	FLGF	50	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
91	PNOS	56	M	C	N	del	PRE	TT	AG
94	LGT	59	M	C	S	pre	PRE	TT	AG
96	AR	50	M	N	N.O.	del	PRE	TT	AG
97	EFS	51	M	N	N.O.	pre	DEL	TT	AA
98	LM	53	M	N	S	del	DEL	TT	AG
100	ORP	56	M	C	N	del	PRE	TC	AA
102	JAS	57	M	C	N	pre	DEL	TT	AG
103	JPML	52	M	C	N	del	DEL	TT	AG
104	HPL	58	M	N	S	del	PRE	TC	AG
105	JSN	58	M	C	N.O.	pre	PRE	TT	AA
110	AB	51	M	N	N	pre	PRE	TC	AA
112	BB	57	M	C	N	pre	PRE	TT	AG
113	SFR	56	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
114	EFS	52	M	N	N	pre	PRE	TC	AA
115	BA	56	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
116	JPA	57	M	C	N.O.	del	PRE	TC	AA
118	ACB	56	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
124	MPM	59	F	C	N	del	PRE	TT	AA

126	RFM	58	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
127	LC	56	M	C	S	del	DEL	TT	AG
128	ECB	49	F	C	N	pre	PRE	TC	AG
129	MJB	58	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
130	ST	50	M	N	N	del	PRE	TT	AA
131	LASB	55	M	C	N	del	PRE	TC	AA
132	MHP	60	M	C	S	pre	PRE	TC	AA
134	JDS	60	M	C	S	del	PRE	TT	AG
136	IF	57	M	C	N	pre	DEL	TT	AA
139	FPB	50	M	N	N	del	PRE	TC	AG
140	WF	60	M	C	S	del	DEL	TT	AA
141	GTS	51	M	N	N.O.	pre	PRE	TT	AG
145	BC	56	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AG
147	KK	56	M	C	N	pre	DEL	TT	AA
148	JPLF	52	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
151	JCM	50	M	C	N	del	PRE	TT	AA
152	BJZ	52	M	N	N	pre	PRE	TT	AA
153	CM	59	M	C	N.O.	pre	PRE	TT	AA
156	AFDO	59	F	N	S	del	PRE	TT	AA
157	JAS	59	M	C	N.O.	pre	PRE	TC	AA
159	JRF	55	M	N	N.O.	del	DEL	TT	AG
161	ACS	50	M	C	N	pre	PRE	TC	AG
165	ESR	60	M	N	N	del	DEL	TT	GG
167	JMHM	55	M	C	N	del	PRE	TT	AA
168	RBM	56	M	C	S	pre	PRE	TT	AA
169	LO	52	M	N	N	pre	PRE	TT	AA
170	JRS	55	M	C	N	pre	DEL	TT	AA
174	AC	54	M	C	N.O.	pre	PRE	TC	AG
179	AP	59	M	C	N.O.	del	PRE	CC	GG
182	RM	51	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
183	AR	58	M	C	N	del	PRE	TT	AG
186	LG	56	M	C	N	del	PRE	TC	AG
187	MCT	58	F	C	N	del	DEL	TC	AG
188	SN	55	M	C	S	del	PRE	TC	AA
192	LOR	58	F	C	N	pre	PRE	TT	AA
194	JEP	58	M	C	N	del	PRE	TT	GG
195	JSB	57	M	C	N.O.	pre	PRE	TC	AA
197	JCQ	55	M	C	N.O.	del	PRE	TT	AA
198	AB	56	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
199	JIA	55	M	N	N	pre	PRE	TT	AA
205	JVR	54	M	N	N	pre	PRE	TT	AA
209	CCP	57	M	C	S	del	DEL	TT	AG
212	FDF	59	M	C	N.O.	pre	DEL	TC	AA
217	WF	56	M	N	N	del	PRE	TC	AA
219	MJS	53	M	C	N.O.	pre	PRE	TT	AA
220	WAC	57	M	C	N	pre	PRE	TT	AA
221	LAS	58	M	C	N	del	PRE	TT	AA
223	BTN	55	M	C	S	pre	PRE	TC	AA

224	AB	50	M	C	N	del	PRE	TT	AA
226	JAS	55	M	N	N	pre	PRE	TT	AG
228	AR	55	M	C	S	pre	PRE	TT	AA
230	JBO	51	M	C	S	pre	PRE	TT	AA
231	CVS	55	M	N	N	pre	PRE	CC	AG
232	JAR	60	M	C	N	pre	PRE	TC	AA
233	AB	58	M	C	N.O.	pre	DEL	TT	AG
236	JS	51	M	C	N	del	DEL	TT	AG
239	EPI	58	F	C	N.O.	pre	PRE	TT	AA
241	JSN	59	M	C	N.O.	pre	PRE	TC	AA
244	MSF	59	M	C	S	pre	PRE	TC	AA

F: feminino, M: masculino, C: caucasóide, N: negróide, A: asiático, N: não fumante, N.O.: informação não obtida, S: fumante, PRE: indivíduos com os genes *GSTM1* presentes, DEL: indivíduos com deleção homozigótica do gene *GSTM1*, Pre: indivíduos com os genes *GSTT1* presentes, del: indivíduos com deleção homozigótica do gene *GSTT1*, TT: indivíduos com o genótipo selvagem do polimorfismo TT6335C do gene *CYP1A1*, TC: indivíduos com o genótipo heterozigoto, CC: indivíduos com polimorfismo variante em homozigose do polimorfismo T6235C do gene *CYP1A1*, AA: indivíduos com e genótipo selvagem em homozigose do polimorfismo A4889G do gene *CYP1A1*; AG: indivíduos com o genótipo hetrozigoto, GG: indivíduos com o genótipo variante em homozigose do gene *CYP1A1*.