



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS
MÉDICAS

**ESTUDO DE POTENCIAIS MARCADORES MOLECULARES
DE SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE PULMÃO**

Francisco Anderson Silva

**BELÉM / PA
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS
MÉDICAS

ESTUDO DE POTENCIAIS MARCADORES MOLECULARES DE SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE PULMÃO

Autor: Francisco Anderson Silva

**Orientador: Prof. Dr. Vinicius de
Albuquerque Sortica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

BELÉM / PA

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB/UFPA)

Silva, Francisco Anderson, 1978-

Estudo de potenciais marcadores moleculares de suscetibilidade ao câncer de pulmão / Francisco Anderson Silva; Orientador, Prof. Dr. Vinícius de Albuquerque Sortica. — 2015.

57 f. : il. ; color. : 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2015.

1. Neoplasias Pulmonares. 2. Polimorfismo Genético. 3. Marcadores Genéticos. I. Sortica, Vinícius de Albuquerque, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.994098115

Francisco Anderson Silva

**ESTUDO DE POTENCIAIS MARCADORES MOLECULARES DE
SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE PULMÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Oncologia

Data da defesa: 27 de agosto de 2015.

Banca Avaliadora:

Prof. Dr. Vinicius de Albuquerque Sortica
ICB – UFPA (Orientador)

Prof. Dr. André Salim Khayat
ICB – UFPA (Avaliador)

Prof^a. Dr^a. Danielle Queiroz Calcagno
ICB – UFPA (Avaliador)

Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção
ICB – UFPA (Avaliador)

BELÉM / PA

2015

RESUMO

O câncer de pulmão é um importante problema de saúde pública, ocupando atualmente a décima posição entre as principais causas de morte no mundo e a principal causa de morte dentre as neoplasias malignas. A predisposição individual ao desenvolvimento de câncer de pulmão pode estar associada a polimorfismos genéticos envolvidos na resposta inflamatória, em mecanismos de ativação ou na detoxificação de carcinógenos, assim como, em defeitos nos mecanismos de identificação e reparo de danos sofridos pelo DNA. O presente estudo teve como objetivo investigar a influência de 13 polimorfismos do tipo inserção/deleção em genes do metabolismo e biotransformação (CYP2E1, CYP19A1 e UGT1A1), genes de controle do sistema imunológico e resposta inflamatória (*IL1A* e *IL4*), genes que regulam a função de genes de controle do ciclo celular e do sistema imunológico (*MDM2* e *NFKB1*), genes de reparação do DNA (*TYMS* e *XRCC1*), gene regulador da apoptose (*CASP 8*), gene regulador da hemostasia (*PAR1*) e gene de controle do ciclo celular (TP53,) quanto a suscetibilidade ao câncer de pulmão. Os polimorfismos foram genotipados por uma reação de PCR multiplex em pacientes com diagnóstico confirmado para câncer de pulmão e em indivíduos da mesma população, sem essa doença. A ancestralidade genética de todos os indivíduos foram estimadas por um painel de marcadores informativos de ancestralidade. Uma análise de regressão logística controlando pelas variáveis idade, gênero e tabagismo foi realizada para determinar a influência dos polimorfismos na susceptibilidade ao câncer. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com câncer e sem câncer. Os polimorfismos estudados não estão associados à suscetibilidade ao câncer de pulmão na população do Pará.

PALAVRAS-CHAVES: câncer de pulmão, susceptibilidade, marcadores genéticos.

ABSTRACT

Lung cancer is a major public health problem, currently occupying the tenth position among the leading causes of death worldwide and the leading cause of death among cancer. The individual predisposition to developing lung cancer could be associated with genetic polymorphisms related to the inflammatory response, activation mechanisms and detoxification or carcinogens, as well as defects in the mechanisms of the DNA repair. This study aimed to investigate the influence of 13 polymorphisms of the type insertion / deletion in genes of the metabolism and biotransformation (*CYP2E1*, *CYP19A1* and *UGT1A1*), control genes of the immune system and inflammatory response (*IL1A* and *IL4*), genes that regulate control of gene function of the cell cycle and immune system (*MDM2* and *NFKB1*), DNA repair genes (*TYMS* and *XRCC1*), regulator of apoptosis gene (*CASP 8*), regulator of hemostasis gene (*PAR1*) and control gene cell cycle (*TP53*) as susceptibility to lung cancer. Polymorphisms were genotyped by a multiplex PCR reaction of patients with a confirmed diagnosis for lung cancer and individuals from the same population without the disease. The genetic ancestry of all individuals were estimated by a panel of ancestry informative markers. A logistic regression analysis controlling for age, gender and smoking was performed to determine the influence of polymorphisms in susceptibility to cancer. No statistically significant differences between the groups with cancer and without cancer were founded. Polymorphisms studied are not associated with susceptibility to lung cancer in the Pará population.

KEYWORDS: lung cancer, susceptibility, genetic markers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Características adquiridas pelas células tumorais (Adaptado de HANAHAN e WEINBERG, 2011). 11
- Figura 2.** Incidência e mortalidade por câncer no mundo em 2012, todos os tipos de câncer (exceto câncer de pele não-melanoma), taxas padronizadas por idade estimada por 100.000 indivíduos (Adaptado de IARC, 2015). 13
- Figura 3.** Incidência e mortalidade por câncer de pulmão no mundo em 2012, taxas padronizadas por idade estimada por 100.000 (Adaptado de IARC, 2015). 15
- Figura 4.** Estimativa do número de casos novos de câncer, segundo o sexo, no Brasil, 2014, exceto pele não melanoma. Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10 (Adaptado do INCA, 2014). 16
- Figura 5.** Estimativa do número de casos novos de câncer, segundo o sexo, na região Norte do Brasil, 2014, exceto pele não melanoma. Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10 (Adaptado do INCA, 2014). 16
- Figura 6.** Taxas brutas de incidência estimadas para 2014 por sexo, segundo Estado e capital, valores por 100 mil habitantes (Adaptado do INCA, 2014). 17
- Figura 7.** CPNPC – Carcinoma epidermoide ou de células escamosas, observar a lesão tumoral localizado na região central do pulmão, comprimindo o brônquio e aderida à traqueia (Adaptado de Mercer University School of Medicine, 2015). 20
- Figura 8.** CPNPC – Adenocarcinoma, observar a lesão tumoral localizado na região periférica do pulmão (Adaptado de Mercer University School of Medicine, 2015). 21
- Figura 9.** Os três estágios da Imunoedição (Adaptado de VESELY, 2011). 29
- Figura 10.** Indivíduos são representados pelos pontos, e as proporções de miscigenação são indicadas pela distância dos vértices do triângulo. Pacientes com câncer de pulmão estão representados em vermelho e os pacientes do grupo controle sem câncer estão representados em azul. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	TNM - Classificação Clínica	21
Tabela 2.	pTNM - Classificação Patológica. As categorias pT, pN e pM correspondem às categorias T, N e M	23
Tabela 3.	Gradação histopatológica	23
Tabela 4.	Grupamento por Estádios	23
Tabela 5.	Resumo esquemático da Classificação TNM para câncer de pulmão	24
Tabela 6.	Caracterização técnica dos polimorfismos investigados	51
Tabela 7.	Características clínicas e demográficas dos pacientes com câncer de pulmão e sem câncer.	53
Tabela 8.	Características de estadiamento e tipo histológico dos tumores de pulmão.	54
Tabela 9.	Médias e variação das proporções de ancestralidades genéticas (%) dos grupos indivíduos com câncer ou sem câncer.	55
Tabela 10.	Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos em estudo nos pacientes com e sem câncer de pulmão.	56
Tabela 11.	Análise de regressão logística comparando os genótipos entre os grupos caso e controle.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>CASP8</i>	Gene caspase 8
CNPs	Polimorfismo no número de cópias
COX2	Ciclooxigenase 2
CPNPC	Câncer de Pulmão Não Pequenas Células
CPPC	Câncer de Pulmão Pequenas Células
CSC	Células tronco tumorais
<i>CYP2E1</i>	Gene citocromo P450, família 2, subfamília E, polipeptídeo 1
<i>CYP2E1</i>	Gene citocromo P450, família 2, subfamília E, polipeptídeo 1
<i>CYP19A1</i>	Gene citocromo P450, família 19, subfamília A, polipeptídeo 1
DNA	Ácido dioxirribonucleico
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
HLA	Complexo principal de histocompatibilidade
IARC	Agência Internacional para Pesquisa do Câncer
<i>IL1A</i>	Gene da interleucina-1 alfa
<i>IL4</i>	Gene da interleucina 4
INDEL	Polimorfismo de inserção ou deleção
LOH	Perda de heterozigidade
<i>KRAS</i>	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
<i>MDM2</i>	Gene murino minuto duplo
<i>NFKB1</i>	Gene fator nuclear do polipeptídeo potencializador do gene kappa em células B-1
<i>PAR1</i>	Gene que codifica receptores ativados por proteases
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PGE2	Prostaglandina E2
PGI2	Prostaciclina
SNP	Polimorfismos de nucleotídeos individuais
<i>TP53</i>	Gene codifica proteína supressora tumoral de 53 kDa
<i>TYMS</i>	Gene codifica a enzima timidilato sintetase
TXA2	Tromboxano A2
<i>UGT1A1</i>	Gene UDP glucuroniltransferase, família 1, polipeptídeo A1
VNTR	Número variável de repetições em tandem
<i>XRCC1</i>	Gene de reparação de raios-X em complemento defeituosos em células de hamster chinês 1

SUMÁRIO

	p.
RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
1. INTRODUÇÃO	11
1.1. Câncer	11
1.1.1. Aspectos Gerais	11
1.1.2. Câncer de Pulmão	14
1.1.2.1. Epidemiologia	14
1.1.2.2. Etiologia	17
1.1.2.3. Classificação	20
1.1.2.4. Classificação TNM	21
1.1.2.5. Fatores de Risco	24
1.1.2.6. Manifestações Clínicas	26
1.1.2.7. Diagnóstico e Tratamento	26
1.2. Imunologia Tumoral	27
1.3. Instabilidade Genômica, Manutenção e Reparo do DNA	30
1.4. Marcadores Moleculares no Câncer de Pulmão	31
1.4.1. Genes em Estudo	32
1.4.1.1. Genes do Metabolismo (Biotransformação)	32
1.4.1.1.1. <i>CYP2E1</i>	32
1.4.1.1.2. <i>CYP19A1</i>	33
1.4.1.1.3. <i>UGT1A1</i>	34
1.4.1.2. Gene de Controle Imunológico e resposta Inflamatória	35
1.4.1.2.1. <i>IL1A1</i>	35
1.4.1.2.2. <i>IL4</i>	36
1.4.1.3. Gene Regulador de Genes do Ciclo Celular e do Sistema Imunológico	37
1.4.1.3.1. <i>MDM2</i>	37
1.4.1.3.2. <i>NFKB1</i>	38
1.4.1.4. Gene de reparação do DNA	39

1.4.1.4.1. <i>TYMS</i>	39
1.4.1.4.2. <i>XRCC1</i>	40
1.4.1.5. Gene Regulador da Apoptose	41
1.4.1.5.1. <i>CASP8</i>	41
1.4.1.6. Gene Regulador da Hemostasia	42
1.4.1.6.1. <i>PAR1</i>	42
1.4.1.7. Gene de Controle do Ciclo Celular	43
1.4.1.7.1. <i>TP53</i>	43
2. JUSTIFICATIVA	45
3. OBJETIVOS	47
3.1. Objetivo Geral	47
3.2. Objetivos Específicos	47
4. APLICABILIDADE	48
5. METODOLOGIA	49
5.1. Tipo de Estudo	49
5.2. Amostra	49
5.2.1. Critérios de Inclusão	49
5.2.2. Critérios de Exclusão	49
5.3. Coleta de Dados	49
5.4. Análises Moleculares	50
5.4.1. Extração de DNA	50
5.4.2. Marcadores de Suscetibilidade	50
5.4.3. Marcadores Informativos de Ancestralidade	51
5.5. Análises Estatísticas	52
6. RESULTADOS	53
6.1. Características clínicas da amostra em estudo	53
6.2. Características do tumor	53
6.3. Estrutura da população	54
6.4. Associação entre os polimorfismos e à suscetibilidade ao câncer	55
7. DISCUSSÃO	59
8. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	75

1. INTRODUÇÃO:

1.1. Câncer:

1.1.1. Aspectos Gerais

O câncer é o resultado de mudanças genéticas adquiridas por células somáticas que conferem a estas, diferentes características como: independência de sinais externos de proliferação, insensibilidade a sinais externos de anti-proliferação, a habilidade de evitar a apoptose, a habilidade de replicar indefinidamente, a capacidade de desencadear angiogênese, a habilidade de invadir tecidos e estabelecer tumores secundários, a promoção da inflamação, instabilidade genômica, desregulação do metabolismo energético celular e escape do sistema imunológico (Figura 1) (HANAHAN e WEINBERG, 2011).

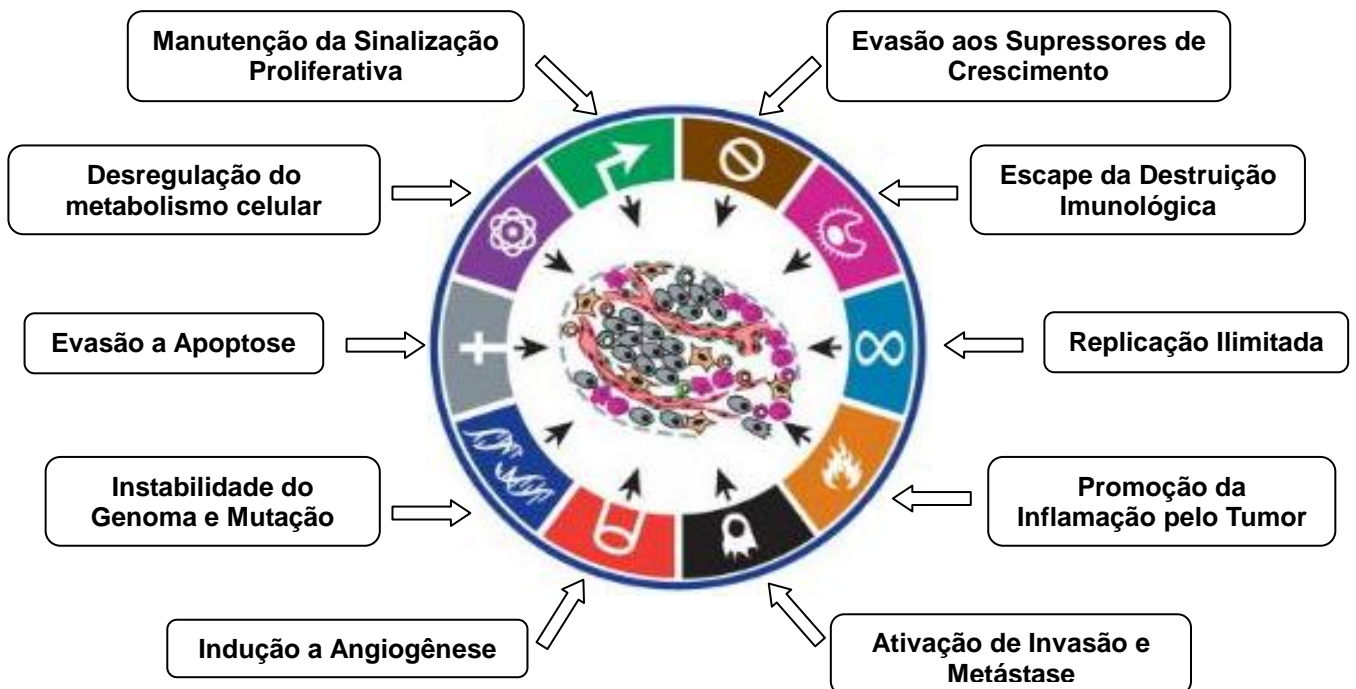


Figura 1: Características adquiridas pelas células tumorais (Adaptado de HANAHAN e WEINBERG, 2011).

Essa doença representa um importante problema de saúde mundial. Um estudo realizado pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC), ligada à Organização Mundial de Saúde (OMS), identificou que o câncer está crescendo em um ritmo considerado alarmante em todo o mundo.

No ano de 2012 foram 14,1 milhões de novos casos de câncer registrados, 8,2 milhões de mortes por câncer e 32,6 milhões de pessoas vivendo com câncer (dentro de 5 anos após o diagnóstico) em todo o mundo, número que deve alcançar 22 milhões nas próximas duas décadas. No mesmo período, o número de mortes deve aumentar de 8,2 milhões para 13 milhões (INCA, 2014; IARC, 2015).

A taxa geral de incidência de câncer é quase 25% maior em homens do que em mulheres, com taxas de 205 e 165 por 100.000 indivíduos, respectivamente. No sexo masculino a incidência apresenta variação de quase cinco vezes entre as diferentes regiões do mundo, com taxas que variam de 79 por 100.000 na África Ocidental para 365 por 100.000 indivíduos na Austrália/Nova Zelândia, onde o câncer de próstata é o principal responsável pela elevação da incidência. No sexo feminino, a incidência apresenta variação menor, quase três vezes entre as diferentes regiões do mundo, com taxas que variam de 103 por 100.000 indivíduos no Centro-Sul da Ásia para 295 por 100.000 indivíduos, na América do Norte (Figura 2) (IARC, 2015).

Com relação à mortalidade, a variabilidade regional é menor do que para a incidência, sendo 15% e 8% mais elevadas em regiões mais desenvolvidas do que nas regiões menos desenvolvidas para homens e mulheres, respectivamente. Nos homens, a mortalidade é mais elevada na Europa centro-oriental (173 por 100.000 indivíduos) e menor na África Ocidental (69 por 100.000 indivíduos). Em contraste, as taxas mais elevadas em mulheres são na Melanésia (119 por 100.000 habitantes) e da África Oriental (111 por 100.000 indivíduos), e a mais baixa na América Central (72 por 100.000 indivíduos) e Centro-Sul da Ásia (65 por 100.000 indivíduos) (Figura 2) (IARC, 2015).

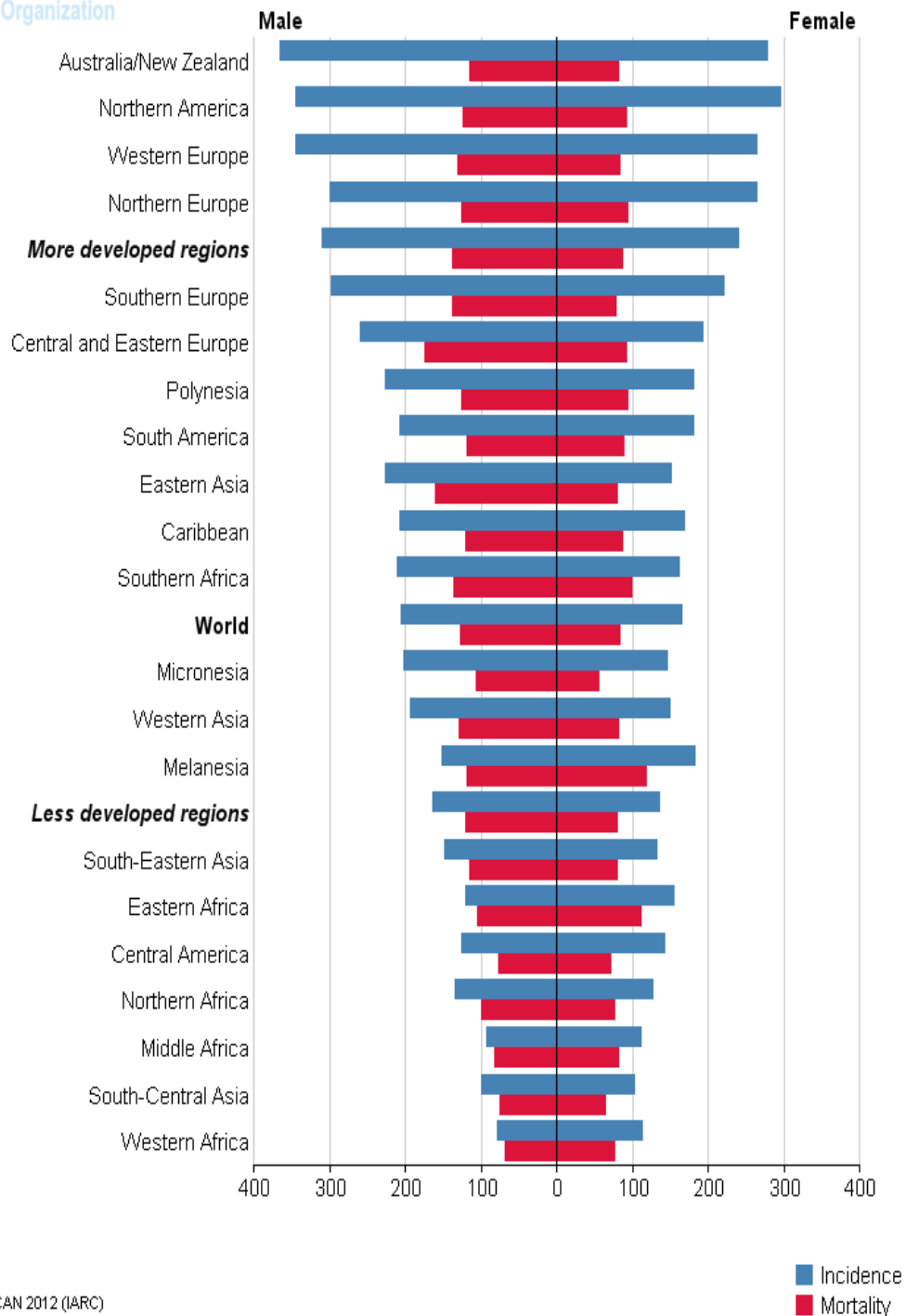


Figura 2: Incidência e mortalidade por câncer no mundo em 2012, todos os tipos de câncer (exceto câncer de pele não-melanoma), taxas padronizadas por idade estimada por 100.000 indivíduos (Adaptado de IARC, 2015).

Globalmente, os tipos de câncer mais comuns registrados em 2012 foram os de pulmão com 1,8 milhão de casos (13% do total), o de mama com 1,7 milhão, (11,9%) e o de intestino grosso com 1,4 milhão (9,7%), sendo os tipos que mais

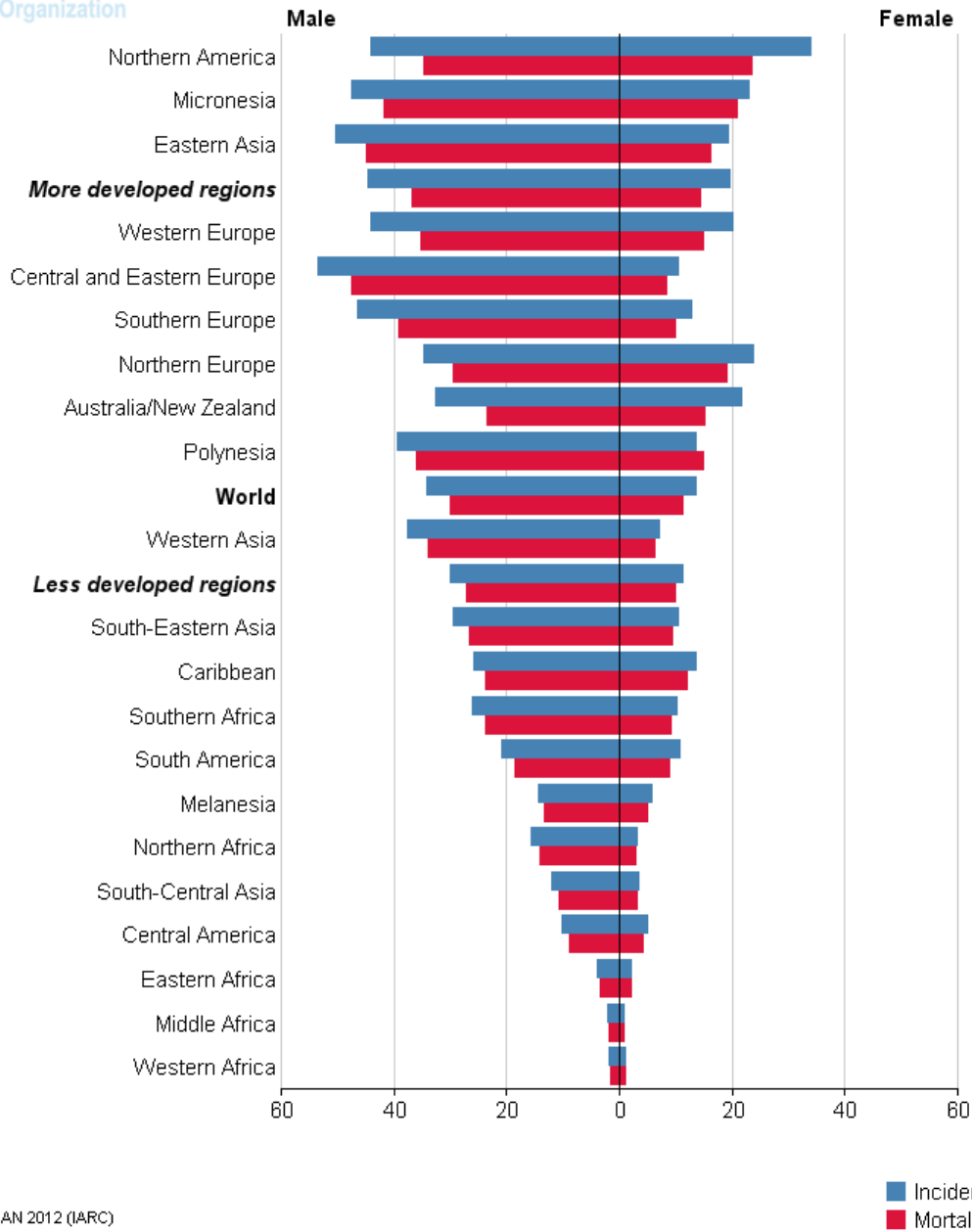
causaram mortes: o de pulmão com 1,6 milhão de mortes (19,4% dos falecimentos por câncer), o de fígado com 0,8 milhão de mortes (9,1%) e o de estômago com 0,7 milhão de mortes (8,8%) (IARC, 2014).

1.1.2. Câncer de Pulmão

1.1.2.1. Epidemiologia

O câncer de pulmão é um importante problema de saúde pública mundial, sendo o tipo de câncer mais comum há várias décadas. Em 2012, foram 1,8 milhões de novos casos, correspondendo a 12,9% do total de casos de câncer. Nesse ano, 58% desses novos casos ocorreram em regiões menos desenvolvidas do planeta. Essa doença permanece como o câncer mais comum em homens em todo o mundo, correspondendo a 1,2 milhões de casos (16,7% do total) com incidência estimada no leste da Europa de 53,5 casos por 100.000 indivíduos, leste da Ásia com 50,4 casos por 100.000 indivíduos, enquanto que a incidência é menor na África ocidental e oriental (2,0 e 1,7 por 100.000 indivíduos, respectivamente). Nas mulheres, a incidência é geralmente mais baixa e o padrão geográfico é um pouco diferente, refletindo, principalmente, diferente exposição histórica ao fumo do tabaco. Assim, as estimativas são mais altas na América do Norte (33,8) e Norte da Europa (23,7) na Ásia Oriental (19,2) e as mais baixas taxas de novo na África Ocidental e Oriente (1,1 e 0,8, respectivamente) (Figura 3) (IARC, 2015).

O câncer de pulmão é a primeira causa de morte por câncer em todo o mundo, estima-se ser responsável por quase um em cada cinco óbitos por câncer, são 1,59 milhões de mortes por cancer de pulmão, correspondendo a 19,4% do total de mortes por câncer. A sobrevida global em 5 anos é de 14 a 17% para o Câncer de Pulmão Não Pequenas Células (CPNPC) e de 6% para o Câncer de Pulmão de Pequenas Células (CPPC). Devido à sua alta letalidade e a relativa falta de variação nas taxas sobrevivência à doença em diferentes regiões do mundo, os padrões geográficos de mortalidade são semelhantes aos de incidência (Figura 3) (GOMES, 2014; IARC, 2015).



GLOBOCAN 2012 (IARC)

■ Incidence
■ Mortality

Figura 3: Incidência e mortalidade por câncer de pulmão no mundo em 2012, taxas padronizadas por idade estimada por 100.000 (Adaptado de IARC, 2015).

Em 2011 o câncer de traqueia, brônquios e pulmão no Brasil, afetou 22.424 indivíduos, sendo 13.698 homens e 8.726 mulheres. As estimativas de novos casos de câncer no Brasil para 2014 destacam o câncer de pulmão como o segundo em número de casos quando se refere ao sexo masculino com 16.400 casos novos, correspondendo a 5,4% do total de casos de câncer estimados, enquanto que, no sexo feminino, é o quarto em número de casos, estimando-se 10.930 novos, correspondendo a 4% do total de casos estimados (Figura 4) (INCA, 2014).

Localização primária	casos	%			Localização primária	casos	%
Próstata	68.800	22,8%	Homens	Mulheres	Mama Feminina	57.120	20,8%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%			Cólon e Reto	17.530	6,4%
Cólon e Reto	15.070	5,0%			Colo do Útero	15.590	5,7%
Estômago	12.870	4,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
Cavidade Oral	11.280	3,7%			Glândula Tireoide	8.050	2,9%
Esôfago	8.010	2,6%			Estômago	7.520	2,7%
Laringe	6.870	2,3%			Corpo do Útero	5.900	2,2%
Bexiga	6.750	2,2%			Ovário	5.680	2,1%
Leucemias	5.050	1,7%			Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%			Leucemias	4.320	1,6%

Figura 4: Estimativa do número de casos novos de câncer, segundo o sexo, no Brasil, 2014, exceto pele não melanoma. Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10 (Adaptado do INCA, 2014).

Para a região Norte as estimativas para 2014 apontam o câncer de pulmão como o terceiro tipo de câncer em número de casos em pessoas do sexo masculino com 620 casos novos (6,1%) e como o quinto em número de casos em pessoas do sexo feminino com 400 novos casos (4%) (Figura 5) (INCA, 2013).

Localização Primária	Casos Novos	%			Localização Primária	Casos Novos	%
Próstata	2.480	24,6%	Homens	Mulheres	Colo do útero	1.890	19,0%
Estômago	900	8,9%			Mama feminina	1.720	17,3%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	620	6,1%			Estômago	470	4,7%
Cólon e Reto	360	3,6%			Cólon e Reto	430	4,3%
Leucemias	290	2,9%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	400	4,0%
Cavidade Oral	270	2,7%			Glândula Tireoide	290	2,9%
Laringe	240	2,4%			Leucemias	240	2,4%
Sistema Nervoso Central	200	2,0%			Ovário	220	2,2%
Linfoma não-Hodgkin	200	2,0%			Corpo do útero	180	1,8%
Bexiga	190	1,9%			Sistema Nervoso Central	170	1,7%
Esôfago	170	1,7%	Linfoma não-Hodgkin	150	1,5%		
Pele Melanoma	80	0,8%	Cavidade Oral	140	1,4%		
Linfoma de Hodgkin	80	0,8%	Bexiga	90	0,9%		
Glândula Tireoide	80	0,8%	Esôfago	90	0,9%		
Todas as Neoplasias sem pele	7.760		Pele Melanoma	70	0,7%		
Todas as Neoplasias	10.090		Linfoma de Hodgkin	70	0,7%		
			Laringe	60	0,6%		
			Todas as Neoplasias sem pele	7.930			
			Todas as Neoplasias	9.930			

Figura 5: Estimativa do número de casos novos de câncer, segundo o sexo, na região Norte do Brasil, 2014, exceto pele não melanoma. Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10 (Adaptado do INCA, 2014).

As estimativas de casos novos de câncer de pulmão no estado do Pará, para 2014, segundo o sexo, correspondem a 260 casos novos para cada 100 mil habitantes para sexo masculino, com taxa bruta de 6,50% e 160 casos novos para cada 100 mil habitantes para o sexo feminino, com taxa bruta de 4,12%. Em se tratando da cidade de Belém, capital do estado do Pará, são estimados 100 casos

novos de câncer de pulmão para cada 100 mil habitantes para sexo masculino, com taxa bruta de 14,13% e 60 casos novos para cada 100 mil habitantes para o sexo feminino, com taxa bruta de 7,58% (Figura 6) (INCA, 2014).

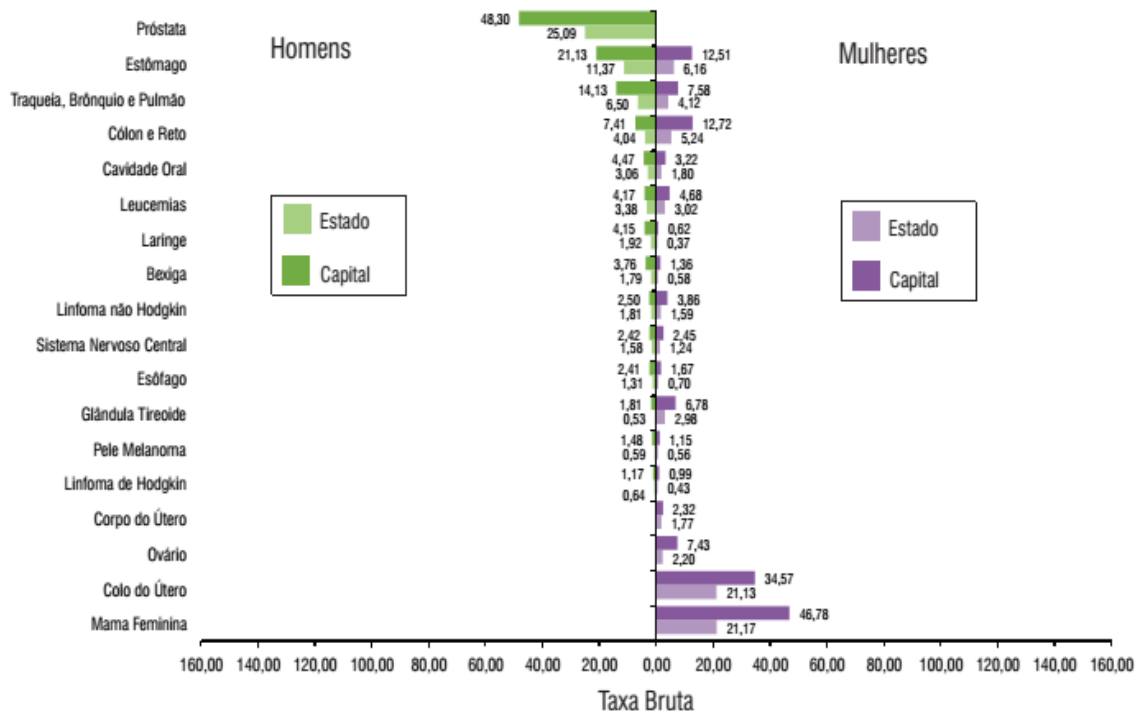


Figura 6: Taxas brutas de incidência estimadas para 2014 por sexo, segundo Estado e capital, valores por 100 mil habitantes (Adaptado do INCA, 2014).

1.1.2.2. Etiologia

Acredita-se que o câncer de pulmão surge após uma progressão de alterações moleculares conhecidas como lesões pré-neoplásicas ou pré-malignas. Esse processo de carcinogênese pulmonar é bastante complexo, envolvendo mutações genéticas e mudanças epigenéticas que, por sua vez, determinarão alterações na dinâmica celular, resultando em proliferação, diferenciação, invasão e metástase. Nesse contexto da carcinogênese pulmonar é relevante destacar alguns conceitos importantes no desenvolvimento dessa doença, como: o campo de cancerização, o papel da inflamação e das células-tronco de câncer de pulmão (GOMPERS, 2011).

Uma das teorias mais relevantes quanto à etiologia do câncer é o campo de cancerização, que consiste em uma área de aparência histologicamente normal no tecido adjacente às lesões neoplásicas que apresentam anormalidades moleculares, algumas das quais, são também idênticas no tumor (SLAUGHTER apud

GOMPERTS, 2013).

O campo de cancerização é observado em várias neoplasias epiteliais (próstata, cabeça e pescoço, cólon, esôfago e câncer de mama), incluindo o câncer de pulmão (GOMPERTS, 2013). Estudos utilizando técnicas citológicas e moleculares estabeleceram que o tabaco promove o surgimento de um campo de lesões em todas as células das vias aéreas expostas a fumaça do cigarro. A hipótese é que a lesão, decorrente do tabaco, desencadeia uma reparação aberrante pelas células-tronco progenitoras, que se submetem a auto-renovação para formar um grupo clonal de células filhas indefinidamente auto-renováveis. Esse grupo celular prolifera de forma desregulada, devido a alterações genéticas e epigenéticas adicionais formando o campo de cancerização e deslocando o epitélio normal (GOMPERTS, 2011; 2013). Além disso, o desenvolvimento de um campo pré-maligno em expansão parece ser um passo crítico na carcinogênese pulmonar que pode persistir mesmo depois da cessação do tabagismo.

As alterações genéticas mais comuns, descritas histologicamente em tecido pulmonar de aparência normal adjacente ao câncer de pulmão (campo de cancerização) são: perda de heterozigiosidade (LOH), mutações no oncogene do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e mutações em genes da família *RAS* (*KRAS*). Mutações em genes da família *RAS* ocorrem em 17 a 25% de todos os tipos de câncer e em 35% no câncer de pulmão, o gene *KRAS* pode estar mutado em 35 a 50% de todos os casos de Câncer de Pulmão Não Pequenas Células (CPNPC). No campo de cancerização também são encontrados alterações epigenéticas, como: metilação do DNA, alterações nos miRNA e modificação em histonas e cromatina (DAKUBO apud GOMPERTS, 2011; GOMPERTS, 2013; SINGH, 2014).

A inflamação crônica exerce um importante papel na etiologia do câncer de pulmão. O tabaco é um potente indutor da inflamação pulmonar, sendo descritas várias alterações nas vias respiratórias associadas ao processo inflamatório crônico, incluindo alterações na produção de citocinas e quimiocinas, e em fatores de crescimento liberados por macrófagos alveolares, linfócitos, neutrófilos, células endoteliais e fibroblastos, que regulam a resposta inflamatória e imunológica (GOMPERTS, 2011).

A ciclooxigenase 2 (COX2) é uma enzima importante na inflamação, desempenha um papel crucial na regulação de citocinas, na respostas imunológica e

na carcinogênese; catalisa a produção de prostanoídes a partir de ácido araquidônico, incluindo principalmente a prostaglandina E2 (PGE2), o tromboxano A2 (TXA2) e prostaciclina (PGI2). A COX2 e a PGE2 desempenham um papel crucial em muitos tumores associados com o tabagismo, incluindo os cânceres de pulmão, gástrico, retal, próstata e bexiga (PATEL, 2007; SAHIN, 2009; HUANG, 2011). Na ausência de inflamação, a COX2 encontra-se em níveis baixos no pulmão, mas que após a lesão, em resposta a citocinas e outros estímulos, tem sua expressão aumentada. Os níveis elevados de COX2 resultam no aumento dos níveis de prostaglandina, incluindo PGE2, a elevação de COX2 e de PGE2 promove a carcinogênese por meio da resistência a apoptose, proliferação, imunossupressão, angiogênese, invasão e da transição epitélio-mesenquimal (EMT).

Eventos oncogênicos, como a mutação de KRAS e a perda de função de p53, a hipóxia e os cancerígenos específicos do tabaco estão associados à elevação dos níveis de COX2 (BRODY, SMITH *apud* GOMPERTS, 2011, HUANG, 2011). Estudos moleculares revelam que níveis elevados de COX2 é uma característica proeminente de lesões pré-malignas e tumores malignos, a carcinogênese frequentemente evolui como uma série progressiva de alterações celulares e moleculares altamente específicas em resposta ao aumento da expressão de COX-2 e a cascata de prostaglandina, a chamada "inflamogênese do câncer" (HARRIS, 2009). Os possíveis mecanismos pelos quais a inflamação pode contribuir para a carcinogênese incluem instabilidade genômica, alterações nos eventos epigenéticos e subsequente inadequada expressão do gene, o reforço da proliferação de células iniciadas, resistência à apoptose, neovascularização, invasão através da membrana basal associada ao tumor, angiogênese e metástase (VALAVANIDIS, 2013)

As células tronco tumorais (CSC) ou células cancerosas de iniciação (CICs) são consideradas células iniciadoras de tumores, pois possuem propriedades de células tronco, ou seja, são capazes de auto-renovar-se e diferenciar-se, mantendo o crescimento do tumor indefinidamente. Acredita-se que as CSC possam ser uma rara célula tronco, uma célula progenitora ou uma célula diferenciada que adquiriu a capacidade de auto-renovação, ou ainda, produto da reprodução desregulada no campo de cancerização, sendo as células progenitoras do tecido tumoral. As CSC contribuem para a resistência do tumor a radioterapia e a quimioterapia, aumento da incidência de metástase e da taxa de mortalidade por câncer de pulmão (AILLES *apud* GOMPERTS, 2011; YOSHIOKA, 2015).

1.1.2.3. Classificação

Do ponto de vista anátomo-patológico, abrangendo cerca de 85% dos casos, o câncer de pulmão é classificado em dois tipos principais: Câncer de Pulmão de Pequenas Células (CPPC) e o Câncer de Pulmão Não Pequenas Células (CPNPC). O Câncer de Pulmão Não Pequenas Células (CPNPC) por sua vez compreende diferentes subtipos: (1) o carcinoma epidermoide ou de células escamosas (Figura 7), o subtipo mais frequente até meados dos anos 80, que se origina das porções proximais da árvore traqueobrônquica em 60 a 80% dos casos, podendo exibir extensa necrose central e cavitações; (2) o adenocarcinoma (Figura 8), o subtipo mais frequente na atualidade, que tem origem nas porções distais da árvore respiratória e conseqüente localização periférica na maioria dos casos, e (3) o carcinoma de células grandes que representa um subtipo de exclusão diagnóstica, quando o tumor não apresenta características dos subtipos anteriores e também não é compatível com o CPPC, sua apresentação mais comum é a de uma massa pulmonar periférica com extensas áreas de necrose (HOFF, 2013; INCA, 2014).

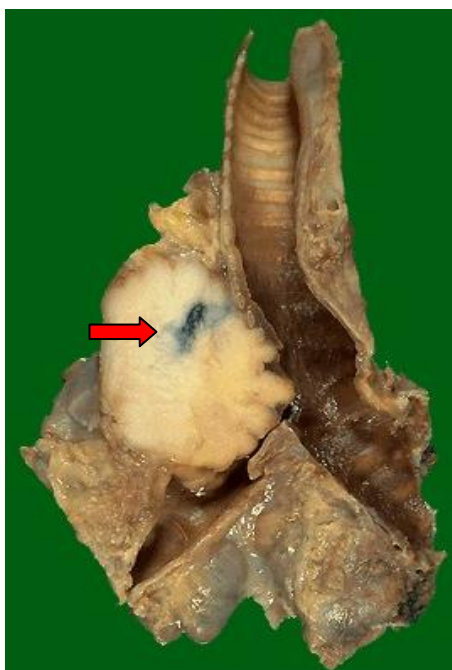


Figura 7: CPNPC – Carcinoma epidermoide ou de células escamosas, observar a lesão tumoral localizado na região central do pulmão, comprimindo o brônquio e aderida à traqueia (Adaptado de Mercer University School of Medicine, 2015).



Figura 8: CPNPC – Adenocarcinoma, observar a lesão tumoral localizado na região periférica do pulmão (Adaptado de Mercer University School of Medicine, 2015).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) classifica o câncer de pulmão em quatro grupos celulares que correspondem a 88% das neoplasias pulmonares, são eles: carcinoma escamoso ou epidermóide, carcinoma de pequenas células, adenocarcinoma (bronquioalveolar) e o carcinoma de células grandes. Os 12% restantes inclui carcinomas indiferenciados, carcinoides, tumores de glândulas brônquicas e outros tipos mais raros de tumor (BRAUNWALD, 2013).

1.1.2.4. Classificação TNM

Tabela 1: TNM - Classificação Clínica

T	Tumor Primário
TX	O tumor primário não pode ser avaliado, ou tumor detectado pela presença de células malignas no escarro ou lavado brônquio, mas não visualizado em diagnóstico por imagem ou broncoscopia
T0	Não há evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor com 3 cm ou menos em sua maior dimensão, circundado por pulmão ou pleura visceral, sem evidência broncoscópica de invasão mais proximal que o brônquio lobar (i.e., sem invasão do brônquio principal)
T2	Tumor com qualquer das seguintes características de tamanho ou extensão:

-
- Com mais de 3 cm em sua maior dimensão
 - Compromete o brônquio principal, com 2 cm ou mais distalmente à carina
 - Invade a pleura visceral
 - Associado com atelectasia ou pneumonite obstrutiva que se estende até a região hilar, mas não envolve todo o pulmão.
- T3** Tumor de qualquer tamanho que invade diretamente qualquer uma das seguintes estruturas: parede torácica (inclusive os tumores do sulco superior), diafragma, pleura mediastinal, pericárdio parietal; ou tumor do brônquio principal com menos de 2 cm distalmente à carina¹ mas sem envolvimento da mesma; ou tumor associado com atelectasia ou pneumonite obstrutiva de todo o pulmão.
- T4** Tumor de qualquer tamanho que invade qualquer das seguintes estruturas: mediastino, coração, grandes vasos, traquéia, esôfago, corpo vertebral, carina; ou nódulo(s) tumoral(ais) distinto(s) no mesmo lobo; tumor com derrame pleural maligno
- Notas**
1. A disseminação superficial, rara, de tumor de qualquer tamanho, com invasão limitada à parede brônquica, que pode se estender proximalmente até o brônquio principal, é também classificada como T1.
 2. A maioria dos derrames pleurais associados com o câncer de pulmão é devida ao tumor. Entretanto, em alguns pacientes, múltiplos exames citopatológicos do líquido pleural são negativos para células malignas, e o líquido não é sanguinolento e nem um exsudato. Quando isso ocorrer e o julgamento clínico evidenciar que o derrame não está relacionado com o tumor, o derrame será excluído como elemento de estadiamento e o aciente deve ser classificado como T1, T2 ou T3.
- N** **Linfonodos Regionais**
- NX** Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
- N0** Ausência de metástase em linfonodos regionais
- N1** Metástase em linfonodos peribrônquicos e/ou hilares homolaterais e nódulos intrapulmonares, incluindo o comprometimento por extensão direta
- N2** Metástase em linfonodo(s) mediastinal(ais) homolateral(ais) e/ou em linfonodo(s) subcarinal(ais)
- N3** Metástase em linfonodo(s) mediastinal(ais) contralateral(ais), hilar(es) contralateral(ais), escaleno(s) homo- ou contralateral(ais), ou em linfonodo(s) supra-clavicular(es)
- M** **Metástase à Distância**
- MX** A presença de metástase à distância não pode ser avaliada
- M0** Ausência de metástase à distância
- M1** Metástase à distância, inclusive nódulo(s) tumoral(is) distinto(s) num lobo diferente (homolateral ou contralateral)
-

Tabela 2: pTNM - Classificação Patológica. As categorias pT, pN e pM correspondem às categorias T, N e M.

pN0 O exame histológico do(s) espécime(s) de linfadenectomia hilar ou mediastinal incluirá, geralmente, 6 ou mais linfonodos. Se os linfonodos são negativos, mesmo que o número usualmente examinado seja não encontrado, classifica-se como pN0.

Fonte: Brasil, Ministério da Saúde, INCA, 2004.

Tabela 3: Graduação histopatológica.

G	Graduação Histopatológica
GX	O grau de diferenciação não pode ser avaliado
G1	Bem diferenciado
G2	Moderadamente diferenciado
G3	Pouco diferenciado
G4	Indiferenciado

Fonte: Brasil, Ministério da Saúde, INCA, 2004.

Tabela 4: Grupamento por Estádios.

Carcinoma oculto	TX	N0	M0
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio IA	T1	N0	M0
Estádio IB	T2	N0	M0
Estádio IIA	T1	N1	M0
Estádio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estádio IIIA	T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
Estádio IIIB	Qualquer T	N3	M0
	T4	Qualquer N	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: Brasil, Ministério da Saúde, INCA, 2004.

Tabela 5: Resumo esquemático da Classificação TNM para câncer de pulmão.

Pulmão	
TX	Citologia positiva, somente
T1	≤ 3 cm
T2	> 3 cm, brônquio principal ≥ 2 cm da Carina, invade pleura visceral, atelectasia parcial
T3	Parede torácica, diafragma, pericárdio, pleura mediastinal, brônquio principal < 2 cm da Carina, atelectasia total
T4	Mediastino, coração, grandes vasos, carina, traquéia, esôfago, vértebra; nódulos distintos no mesmo lobo, derrame pleural maligno
N1	Peribrônquico homolateral, hilar homolateral
N2	Mediastinal homolateral, subcarinal
N3	Hilar ou mediastinal contralateral, escaleno ou supra-clavicular
M1	Inclui nódulo distinto em lobo diferente

Fonte: Brasil, Ministério da Saúde, INCA, 2004.

1.1.2.5. Fatores de Risco

O câncer de pulmão apresenta como principal fator de risco o tabagismo, seguido pelo fator genético, riscos ambientais e ocupacionais.

A primeira ligação entre o tabagismo e o câncer de pulmão foi relatada em 1929 pelo médico alemão Fritz Lickint (SINGH, 2014). O tabaco é o agente carcinogênico mais importante, superando facilmente qualquer outro fator de risco, sendo considerado responsável por 90% das neoplasias pulmonares e por 30% da mortalidade de outros tipos de câncer (ROSAS, 2013). Fumar é de longe o maior e mais evitável fator de risco para câncer de pulmão, sendo responsável por aproximadamente 70% dos casos de CPNPC e 90% dos casos de CPPC (SCHAAL, 2014).

O cigarro contém mais de 4.000 substâncias químicas, sendo que cerca de 60 foram identificados como cancerígenos, em especial, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH) e as nitrosaminas derivadas de nicotina (NNK) que estão implicados na tumorigênese do câncer de pulmão (SINGH, 2014; SCHAAL, 2014).

O risco de câncer de pulmão diminui em ex-fumantes, sendo que, cinco anos após cessar o tabagismo, o risco cai pela metade, em contrapartida, mesmo após parar de fumar quinze anos, os ex-fumantes ainda tem um risco de desenvolver o câncer de pulmão de 1,4 a 4 vezes maior que o não fumante. (UEHARA, 1998).

O fumante passivo é o indivíduo não fumante, que convive com fumantes em ambientes fechados, ficando assim, exposto aos componentes tóxicos e cancerígenos presentes na fumaça ambiental do tabaco. A Organização Internacional do Trabalho (OIT) estima que, por ano, cerca de 200.000 trabalhadores morram por causa da exposição à fumaça tabagística no ambiente de trabalho, sendo que os trabalhadores do setor de serviços de alimentação é a categoria mais exposta, correspondendo a terem fumado de 4-10 cigarros/dia. O tabagismo passivo é uma das principais causas de doenças em não fumantes, incluindo câncer do pulmão, doença isquêmica do coração e morte por parada cardíaca (COUTO, 2009).

Diversos fatores presentes no ambiente interagem diretamente com a etiologia da doença, sendo o ambiente ocupacional um local de possível exposição a agentes cancerígenos, que dependendo da atividade laboral exercida, essa exposição poderá ser em maior ou menor grau. A International Agency for Research on Cancer (IARC) classifica os agentes cancerígenos relacionados ao câncer de pulmão, com condições de exposição e atividades relacionadas, como por exemplo: a exposição ao arsênio por via respiratória durante a fabricação e uso de pesticidas arsenicais e na fundição de minério de cobre, a exposição ao asbesto durante a fabricação e manuseio de artefatos de cimento amianto, pastilhas de freio e discos de embreagem, a exposição ao radônio através da mineração subterrânea de ouro, ferro e urânio, e outros (ALGRANTI, 2010). O amianto é um dos cancerígenos ocupacionais mais importantes, responsável por cerca da metade das mortes da metade das mortes por câncer ocupacional (SINGH, 2014).

A exposição aos poluentes do ar é um fator de risco para diversas doenças respiratórias, inclusive o câncer de pulmão. A qualidade do ar interfere diretamente na saúde respiratória, devido à presença de diversos cancerígenos humanos, como por exemplo, os benzopirenos.

Os efeitos da exposição a estes poluentes na população podem contribuir para o surgimento do câncer de pulmão devido à ação direta de agentes cancerígenos presentes no ar poluído, que induz a inflamação crônica do trato respiratório, o que se torna mais prejudicial à saúde respiratória quando além da

poluição do ar, soma-se o tabagismo. A exposição crônica à poluição do ar aumenta de 20 a 30% o risco de incidência de câncer de pulmão (ARBEX, 2012; SINGH, 2014).

1.1.2.6. Manifestações Clínicas

A maioria dos pacientes com câncer de pulmão, cerca de 75%, apresentam-se sintomáticos no momento do diagnóstico, apresentando sinais e sintomas decorrentes dos efeitos locais do tumor, da disseminação regional e/ou sistêmica ou ainda, da presença de alterações paraneoplásicas.

Os sinais e sintomas mais frequentes são: tosse, emagrecimento, dispneia, dor torácica, hemoptise, dor óssea, baqueteamento digital, febre, fraqueza, síndrome da compressão da veia cava superior, disfagia e sibilância ou estridor. A tosse é o sintoma inicial mais comum e mais frequente em pacientes com tumores centrais. A dispneia também é muito frequente em pacientes com câncer de pulmão podendo ser decorrente de compressão brônquica extrínseca ou intraluminal, atelectasia, derrame pleural e outros. Os locais mais comuns de disseminação metastáticas são o fígado, as adrenais, os ossos e o encéfalo. As síndromes paraneoplásicas mais frequentes são: a hipercalemia maligna, a síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético (SIADH), a osteoartropatia hipertrófica, a dermatopolimiosite e as manifestações hematológicas (HOFF, 2013).

1.1.2.7. Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico de pacientes com suspeita de câncer de pulmão é estabelecido por uma anamnese e exame físico meticuloso para determinar as condições clínicas do paciente, assim como a presença de outras morbidades. Esse paciente deve ser submetido a exames laboratoriais, exames de imagem como raio x e tomografia computadorizada, citologia do escarro, broncoscopia e biópsia pulmonar para a confirmação diagnóstica (INCA, 2014).

A escolha do tipo de tratamento para o câncer de pulmão leva em consideração as condições clínicas e as co-morbidades do paciente, assim como as peculiaridades apresentadas pelos dois tipos histológicos da doença: CPNPC e o CPPC. O estadiamento do CPNPC é realizado através da classificação TNM (Tumor,

Linfonodos e Metástase) agrupando a doença em quatro estadios (GOLDSTRAW, 2007). A escolha da modalidade terapêutica é baseada no estadio em que se encontra o CPNPC no paciente, em geral para o estagio I e II a cirurgia é o tratamento de escolha, podendo ser associado à radioterapia e quimioterapia, respectivamente; no estadio III realiza-se o tratamento combinado de quimioterapia e radioterapia, podendo ser indicado cirurgia em alguns casos; no estadio IV a quimioterapia é o tratamento indicado (HOFF, 2013, INCA, 2014). Para o CPPC o estadiamento pode ser realizado pelo sistema do Veterans Administration Lung Study Group (VALSG) classificando a doença em limitada e extensa (STAHEL, 1989), ou pode ser utilizado a classificação TNM (SHEPHERD, 2007). O tratamento de escolha para o CPPC é a quimioterapia, podendo ser incorporado à radioterapia ou a cirurgia em alguns casos. Estudos recentes tem procurado explorar a heterogeneidade da doença em termos de histologia e marcadores moleculares, a fim de desenvolver uma estratégia mais racional e obter melhores resultados (INCA, 2014).

1.2. Imunologia Tumoral

A formação de um tumor a partir de uma célula normal depende da aquisição de uma série de mutações que aumentam a capacidade de proliferação e resistência à morte. Estudos clínicos e epidemiológicos têm sugerido uma forte associação entre a inflamação crônica e o câncer. O sistema imunológico desempenha um papel crítico na prevenção da infecção e na manutenção da homeostase dos tecidos e células. O componente inflamatório associado ao desenvolvimento da neoplasia inclui uma população diversa de leucócitos; que promovem a progressão do tumor devido à sua capacidade para libertar uma variedade de mediadores inflamatórios, como: citocinas, quimiocinas e mediadores citotóxicos tais como as espécies reativas de oxigênio (ROS), metaloproteinases, interleucinas, interferons e vários fatores de crescimento. A inflamação está relacionada com muitos aspectos do câncer, incluindo a proliferação e sobrevivência de células malignas, angiogênese, metástase tumoral, e a resposta do tumor a fármacos quimioterapêuticos e hormonais. (GOMES, 2014; NYUNOYA, 2014).

A inflamação associada ao câncer também está relacionada com a supressão imunológica que permite que as células cancerosas evitem a detecção

pelo sistema imunológico. A inflamação é um componente crítico da progressão do tumor. Muitos cânceres surgem em locais de infecção, irritação e inflamação crônica. As alterações moleculares que ocorrem no microambiente do tumor são em grande parte, orquestrada por células inflamatórias, as quais são participantes imprescindíveis no processo neoplásico, promovendo a proliferação, sobrevivência e migração celulares (VALAVANIDIS, 2013).

O desenvolvimento tumoral depende das interações entre as suas células e as células do sistema imunológico, a hipótese da imunoeedição é um processo dinâmico que postula que essas interações ocorrem em três estágios chamados de os três “Es” (eliminação, equilíbrio e evasão ou fuga). No estágio de eliminação as moléculas e as células da imunidade inata e adaptativa, em conjunto, detectam a presença de um tumor em desenvolvimento e elimina as células modificadas antes que se tornem clinicamente evidentes, restando apenas algumas variantes não identificáveis como tumor, que passam para a fase de equilíbrio.

Durante o estágio de equilíbrio as células tumorais tornam-se funcionalmente dormentes e permanecem clinicamente inaparentes, apresentando um lento desenvolvimento, sendo pouco detectáveis pelo sistema imunológico, acumulando novas mutações ao longo de vários anos, inclusive a capacidade de suprimir a resposta imunológica. No estágio de evasão o tumor adquire a habilidade de escapar da ação do sistema imunológico, devido ao aumento da imunossupressão induzida pelo câncer ou avaria do sistema imunológico devido ao envelhecimento natural, resultando na quebra do processo de dormência funcional da população de células tumorais, que começam a crescer de uma forma imunologicamente irrestrita e emergem como a doença clinicamente evidente (Figura 9). O principal mecanismo de controle da carga tumoral é a destruição de células tumorais por linfócitos T CD8+ citotóxicos, que são capazes de reconhecer os antígenos tumorais apresentados no contexto de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (HLA) de classe I. As respostas antitumorais de memória são executadas pelos linfócitos T CD4+ que reconhecem os antígenos tumorais apresentados pelo HLA de classe II (VESELY, 2011; HOFF, 2013).

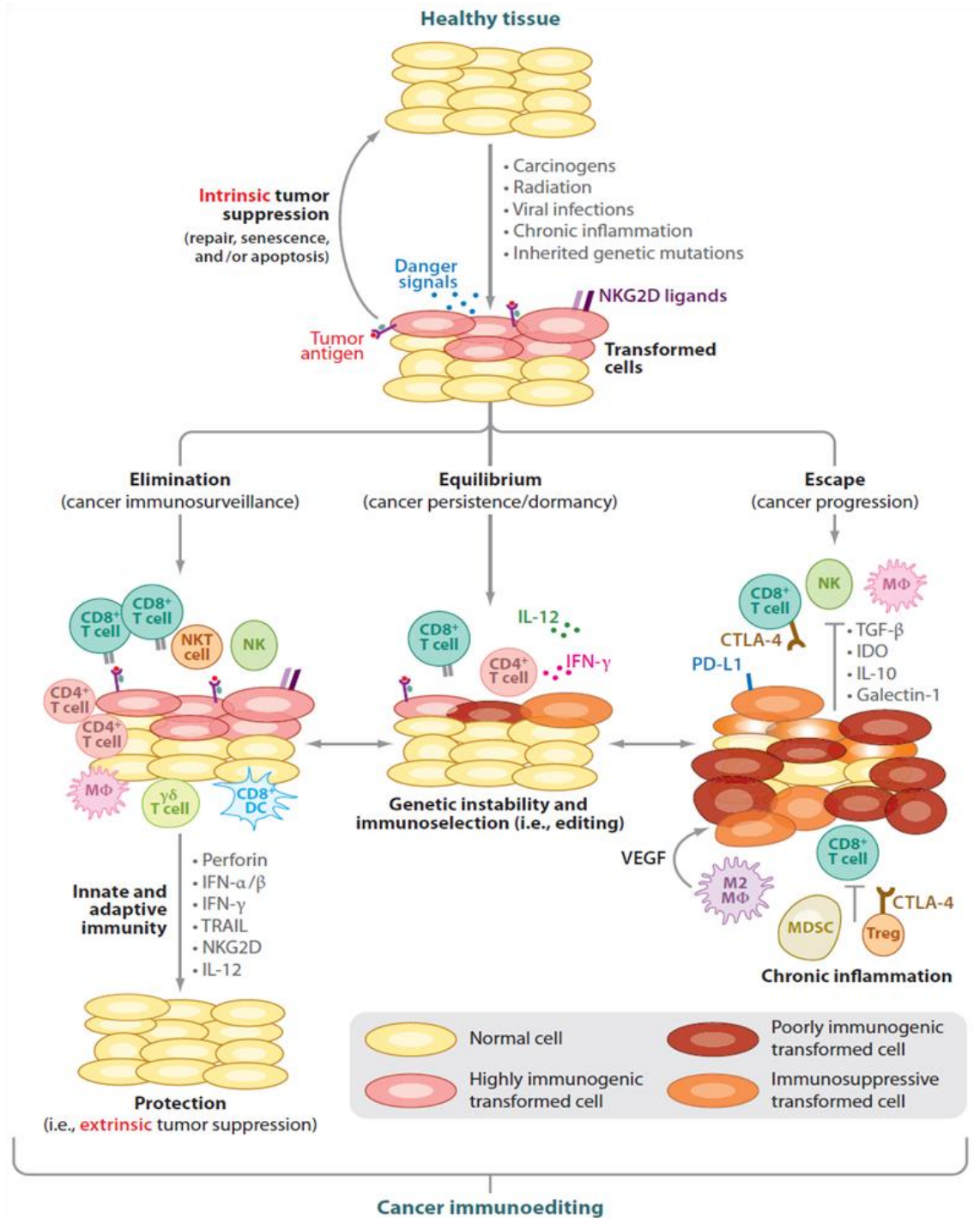


Figura 9: Os três estágios da Imunoedição - Abreviações: CTLA-4, linfócito T citotóxico associado proteína-4; IDO, indoleamina 2,3-deoxygenase; IFN, interferon; IL, interleucina; MO, macrófagos; MDSC, células supressoras derivadas mielóides; NK, assassinas naturais; NKG2D, grupo NK2, membro D; PD-L1, a morte celular programada um ligando 1; TGF- β , factor de crescimento transformante- β ; TRAIL, fator de necrose tumoral indutor de apoptose; Treg, células T reguladoras; VEGF, factor de crescimento vascular - (Adaptado de VESELY, 2011).

O sistema imunológico apresenta três funções primárias na prevenção de tumores. Em primeiro lugar, pode proteger o hospedeiro a partir de tumores induzidos por vírus através da eliminação ou supressão de infecções virais. Em

segundo lugar, a eliminação de patógenos e a rápida resolução da inflamação podem impedir o estabelecimento de um ambiente propício para carcinogênese inflamatória. Finalmente, o sistema imune pode identificar e eliminar especificamente células tumorais em certos tecidos em função da sua expressão de antígenos específicos de tumores. Este terceiro processo, é denominado imunovigilância do câncer, ocorre quando o sistema imunitário identifica células transformadas que escaparam dos mecanismos supressores de tumores, eliminando-as antes que possam estabelecer a malignidade, desta forma, a evasão da vigilância imunológica é referida como a sétima marca do câncer (VESELY, 2011).

1.3. Instabilidade Genômica, Manutenção e Reparo do DNA

Os mecanismos fundamentais de divisão celular e replicação do DNA apresentam um perigo inerente de que a maquinaria de replicação inevitavelmente cometa erros, o que pode comprometer a integridade do genoma e, potencialmente, resultar na formação do câncer.

O DNA é à base de nossa identidade genética, sendo essencial a sua manutenção para garantir a correta transmissão da informação genética a todas as gerações celulares, no entanto, além dos danos resultantes de reações espontâneas, o DNA pode sofrer danos causados por diversos agentes endógenos e exógenos. As lesões no DNA causam instabilidade genômica, podendo resultar na morte celular, mutações, alterações estruturais no genoma e alteração no perfil de expressão dos genes; que atuam modificando os processos biológicos normais, resultando em consequências graves ao organismo humano, dentre elas o câncer.

A instabilidade genômica pode iniciar câncer, aumentar a progressão do tumor, e influenciam o prognóstico do doente. Desta forma, garantir a integridade do genoma é fundamental para o equilíbrio da vida e a sobrevivência celular, com esse objetivo, a célula em resposta a lesão do DNA, ativa diferentes mecanismos de reparo, essa maquinaria de manutenção e reparo depende de uma intrincada rede que garante a estabilidade do genoma. No entanto, a instabilidade genética é uma força que impulsiona o desenvolvimento de células tumorais e muitos tumores caracterizam-se pela perda de funcionalidade em uma ou várias vias de reparação do DNA (WEINBERG, 2008; VESELY, 2011; HOFF, 2013; OLAUSSEN, 2014; FERGUSON, 2015).

1.4. Marcadores Moleculares no Câncer de Pulmão

As variações genéticas são relativas a diferenças na sequência dos nucleotídeos, ou no arranjo dos blocos de sequência entre diferentes genomas. Estas diferenças constituem um fenômeno natural de genomas humanos e são os principais contribuintes para a variação fenotípica humana. A variação genética pode resultar em fenótipos benignos ou patogênicos. Muitas vezes atribuem características adaptativas, tornando-se comuns na população, conferindo uma vantagem seletiva. As variantes genéticas são classificadas pelo tamanho dos diferentes segmentos de DNA, medido em pares de bases, bem como pela natureza e localização dos eventos relativos a um genoma de referência. O tipo de variante reflete se o DNA foi substituído, perdido ou rearranjado (invertido, translocado), duplicado ou inserido (HARAKSINGH, 2013).

O DNA humano apresenta variações polimórficas em sua sequência de nucleotídeos, podendo ser classificadas de acordo com a maneira em que a sequência de DNA varia em: polimorfismos de nucleotídeos individuais (SNPs), polimorfismo de inserção ou deleção (Indels) e o polimorfismo no número de cópias (CNPs). Os Indels são uma importante fonte de variação biológica, uma vez que podem modificar a fase leitura de uma sequência gênica inibindo ou modificando a sua expressão. Indels são pequenas inserções ou deleções que variam de 1 a 10000 pb de tamanho (SUEHIRO, 2013; YOSHIDA, 2013; HARAKSINGH, 2013). Durante a última década, vários milhões de pequenas indels foram descobertos no genoma humano. A quantidade de variação genética que é causada por estes indels é substancial, sendo o segundo em número de polimorfismos, e em termos de pares de bases, apresenta níveis similares aos SNPs. Muitos indels estão em locais importantes dentro genes humanos, e assim, são susceptíveis de influenciar as características humanas e doenças (MULLANEY, 2010).

A predisposição individual ao desenvolvimento de câncer de pulmão pode estar associada a polimorfismos genéticos envolvidos na resposta imunológica as células tumorais, mecanismos de ativação e detoxificação dos carcinógenos provenientes do tabaco, assim como, em defeitos nos mecanismos de identificação e reparo de danos sofridos pelo DNA. O organismo possui diversos mecanismos para inibir os danos resultantes da ação de carcinógenos, como por exemplo: as proteínas da glutathione-S transferase e da família de P450, são capazes de inativar

diferentes compostos carcinogênicos. Os mecanismos de reparo de DNA detectam alterações nessa molécula e, promovem seu reparo, ou podem causar a interrupção do ciclo celular ou induzir a apoptose as células com DNA alterado. (HARAKSINGH, 2013).

1.4.1. Genes em Estudo

Foi estudado a influencia de 13 polimorfismos do tipo inserção/deleção em genes do metabolismo e biotransformação (CYP2E1, CYP19A1 e UGT1A1), genes de controle do sistema imunológico e resposta inflamatória (IL1A e IL4), genes que regulam a função de genes de controle do ciclo celular e do sistema imunológico (MDM2 e NFKB1), genes de reparação do DNA (TYMS e XRCC1), gene regulador da apoptose (CASP 8), gene regulador da hemostasia (PAR1) e gene de controle do ciclo celular (TP53,) quanto a suscetibilidade ao câncer de pulmão.

1.4.1.1. Genes do Metabolismo (Biotransformação)

1.4.1.1.1. CYP2E1

O gene *CYP2E1* ou citocromo P450, família 2, subfamília E, polipeptídeo 1, está localizado no braço longo do cromossomo 10 (10q26.3). Este gene codifica um membro da superfamília de enzimas Citocromo P450 (CYP), uma hemoproteína, pertencente à classe de enzimas conhecidas como mono-oxigenases. Essa enzima é produzida no retículo endoplasmático de células hepáticas, assim como em outros órgãos, e são liberadas em vesículas chamadas de microssomos. Catalisam diversas reações envolvidas no metabolismo de fármacos e na síntese de colesterol, esteróides e outros lipídios (NCBI, 2015; GENE CARDS, 2015; KATZUNG, 2014). O *CYP2E1* metaboliza fármacos como o paracetamol, clorzoxazona, enflurano, halotano e etanol, sendo induzida sua expressão pelo próprio etanol e pela isoniazida, sua inibição ocorre pela 4-metilpirazol e por dissulfiram (KATZUNG, 2014).

Um estudo de meta-análise realizado na população asiática demonstrou uma associação significativa entre o polimorfismo do CYP2E1 RsaI/PstI com cânceres do

sistema respiratório (incluído câncer de pulmão, câncer de laringe, câncer de nasofaringe, e outros cânceres de órgãos respiratórios), estando esse polimorfismo associado a redução do risco de câncer do sistema respiratório (XU, 2014).

Outro estudo de meta-análise investigou a associação entre o câncer de pulmão e os polimorfismo do gene *CYP2E1* RsaI (rs2031920), e DraI (rs6413432), obtendo indicações de que o polimorfismo *CYP2E1* RsaI está associado com o risco de câncer de pulmão entre os asiáticos, o polimorfismo *CYP2E1* RsaI podem estar associados com o risco de adenocarcinoma de pulmão, e os polimorfismos de *CYP2E1* RsaI e DraI podem ser associados com a diminuição do risco de câncer de pulmão em fumantes (YE, 2015).

Um estudo realizado na população da Mongólia investigou a associação dos polimorfismos dos genes *CYP2E1* e *NAT2* (Nacetiltransferase-2) com a suscetibilidade ao câncer de pulmão, sendo observado que os fumantes com *NAT2* de acetilação lenta podem ter maior risco de câncer de pulmão em comparação com a variante de acetilação rápida. Os genótipos c1/c1 e DD de *CYP2E1* e a *NAT2* de acetilação lenta tem forte ação sinérgica no aumento do risco de câncer de pulmão (ZHANG, 2014).

1.4.1.1.2. CYP19A1

O gene *CYP19A1* ou citocromo P450, família 19, subfamília A, polipeptídio 1, é um gene que codifica uma enzima chamada de aromatase (um membro da superfamília de enzimas citocromo P450), estando localizado no braço longo do cromossomo 15 (15q21.1). Mutações neste gene podem resultar no aumento ou diminuição da atividade da aromatase (NCBI, 2015; GENE CARDS, 2015). A enzima *CYP19* ou aromatase catalisa a conversão de androgênios em estrogênios. A aromatase é produzida pelas células de Sertoli, e converte a testosterona derivada das células de Leyding no estrógeno β -estradiol (BERNE & LEVY, 2009; KANDA, 2015).

Estudos recentes demonstraram que os estrogênios são sintetizados in situ em ambos os sexos, sugerindo que esteróides sexuais podem contribuir para a patogênese e no desenvolvimento de carcinoma de pulmão. Além disso, foi relatado que uma menor expressão de aromatase pode estar associada a um melhor

prognóstico. Estudos pré-clínicos demonstraram que o inibidor da aromatase (IA) suprimiu o crescimento de tumores do pulmão, tanto *in vitro* como *in vivo*. Estes resultados sugerem um papel potencial da aromatase intratumoral no comportamento biológico de CPNPC (VERMA, 2011). As metástases são aspectos-chave do CPNPC, um estudo investigou a associação do uso de inibidores da aromatase e a metástases em CPNPC, sendo observado que o tratamento de linhagem de células de CPNPC com um inibidor da aromatase não só afeta a migração celular e a invasão, mas também modifica as propriedades mecânicas das células tumorais (GIANNOPOULOU, 2014).

A taxa de detecção de adenocarcinomas de pulmão, que apresentam múltiplos nódulos periféricos, está aumentando na população asiática, por causa dos avanços na tomografia computadorizada de alta resolução. Um estudo detectou uma significativa associação do polimorfismo SNP do gene CYP19A1 (rs3764221) com o risco de adenocarcinoma múltiplo (OR = 3,06; P = 0,006), indicando que esse polimorfismo contribui para o desenvolvimento de adenocarcinoma do pulmão multicêntrico periférico (IKEDA, 2013).

Um estudo realizado com mulheres norte americanas, demonstrou que o indel (rs11575899) do gene CYP19A1 está relacionado com o risco de câncer de endométrio, e com o índice de massa corporal (IMC) (OLSON, 2008). Até o momento esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão.

1.4.1.1.3. UGT1A1

O gene *UDP glucuroniltransferase*, família 1, polipeptídeo A1 (*UGT1A1*), está localizado no braço longo do cromossomo 2 (2q37) e codifica a enzima glucuroniltransferase uridina difosfato (UDPGT). Essa enzima pertencente a via glucuronidação que transforma pequenas moléculas lipofílicas, tais como esteróides, bilirrubina, hormônios e fármacos, em metabólitos solúveis em água (GENES CARD, 2015; NCBI, 2015).

Pelo importante papel na detoxificação na metabolização de vários carcinógenos, a UGT1A1 parece estar associada ao desenvolvimento tumoral, uma vez que ela é responsável pela glucuronidação de hormônios, eliminando possíveis

excessos de estrógenos no corpo (BAJRO, 2012; CLENDENEN, 2013).

A exposição a estrogênio desempenha um papel crítico no desenvolvimento de câncer de mama e de endométrio. Estudos de caso controle investigaram a relação entre variantes genéticas específicas em genes relacionados com os hormônios sexuais, dentre elas o indel rs8175347, e o risco de câncer de mama e de endométrio. No entanto, não foi observada uma associação entre este polimorfismo da via de estrogênio com o risco de desenvolver esses tipos de câncer (DEMING, 2008; CLENDENEN, 2013). Esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão até o momento.

1.4.1.2. Gene de Controle Imunológico e Resposta Inflamatória

1.4.1.2.1. *IL1A*

O gene da interleucina-1 alfa (*IL1A*) está localizada no braço longo do cromossomo 2 (2q14) e codifica a proteína a interleucina-1 alfa (*IL-1 α*), que atua principalmente nas células do sistema imunológico. Essa interleucina possui funções na indução e comunicação das células do sistema imunológico e está envolvida na resposta inflamatória e na defesa do organismo contra infecções, tais como bactérias e vírus, estando também envolvido na reabsorção óssea (DINARELLO, 2009; GENETICS HOME REFERENCE, 2014; ZHANG, 2015).

As *IL-1 α* e *IL-1 β* são secretadas pelos macrófagos e outras células em resposta a infecções por microorganismos ou danos ao tecido, e em conjunto com o fator de necrose tumoral alfa (*TNF- α*) atuam de maneira importante na inflamação aguda. Essas interleucinas também induzem a produção de fatores angiogênicos pelas células do estroma podendo facilitar a invasão e o crescimento tumoral (APTE, 2002; HUANG, 2015).

Estudos recentes demonstraram a influência de polimorfismos no gene *IL1A* na suscetibilidade de diferentes tipos de câncer. Em uma população caucasóide dos Estados Unidos (EUA), foi demonstrado que os polimorfismos do gene *IL1A*, -889C>T e Ala114Ser foram associados com um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão (ENGELS, 2007). Na população japonesa, um estudo com SNPs de *IL1A* demonstrou que a variante não sinônima de *IL1A* (rs17561) pode conferir susceptibilidade genética para endometriose entre as japonesas (HATA, 2013).

Um estudo na população chinesa investigou a relação entre dois polimorfismos do gene IL1A com o risco de carcinoma nasofaríngeo (NPC). Nesse estudo, não foi encontrada relação entre o polimorfismo 889C>T com o risco de NPC, entretanto o polimorfismo rs3783553 (inserção TTCA) foi associado com o risco de desenvolvimento de NPC por afetar a produção de IL1A (YANG, 2011). O polimorfismo indel rs3783553, está localizado na região 3'UTR do gene IL1A, em um sítio de ligação do miRNA-122. Esse polimorfismo foi associado ao o câncer gástrico, podendo ser um fator de proteção ao desenvolvimento do tumor (ZENG, 2014). Esse polimorfismo também pode ser utilizado como um marcador genético para prever a dimensão e extensão do carcinoma papilífero de tireoide (PTC), pois pacientes portadores do polimorfismo de inserção apresentam risco diminuído para desenvolver a doença quando comparados com pacientes que apresentam o polimorfismo de deleção (GAO, 2014).

Um estudo na população asiática o indel rs3783553 está associado à susceptibilidade individual para a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) e o risco de desenvolver carcinoma oral de células escamosas (CEB). Este estudo evidenciou que sozinha, a soropositividade para HPV16 L1 está associada a um risco aumentado de CEB, o risco associado de CEB-HPV16 foi modificado pelo polimorfismo rs3783553, pacientes HPV16-positivo com genótipo Del/Del são aproximadamente três vezes mais propensos a ter carcinoma de células escamosas da orofaringe (SCCOP) em comparação com os pacientes portadores do alelo Ins (Ins/Del + Ins/Ins) (ZHANG, 2015).

Até o momento esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão.

1.4.1.2.2. IL4

O gene da interleucina 4 (IL4) está localizado no braço longo do cromossomo 5 (5q31.1) e codifica uma citocina pleiotrópica produzida por células T ativas, que estimula as células B a se diferenciar em plasmócitos secretores de IgE e IgG1 (GENETICS HOME REFERENCE, 2014). A interleucina 4 é uma citocina anti-inflamatória, que reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias por monócitos, com efeitos anti-proliferativos diretos em alguns tumores (YANNOPOULOS et al, 2007), entretanto essa interleucina também está envolvida na resistência a apoptose em

carcinomas do cólon, das mamas e de pulmões pela indução de proteínas anti-apoptóticas (TODARO et al, 2008).

Diferentes estudos demonstraram a influência de polimorfismos no gene IL4 no câncer. O SNP -590C>T na região promotora do gene de IL4, foi associado com o desenvolvimento de CPNPC, os indivíduos homocigotos para o alelo T possuem um risco diminuído de desenvolver CPNPC do tipo epidermoide quando comparado aos indivíduos -590CC (GOMES, 2012). Em um estudo recente na população dos EUA e do México, os polimorfismos rs2243250 e rs2243263 no gene IL4 foram associados a mortalidade por câncer de mama (SLATTERY et al, 2014).

O VNTR no intron 3 desse gene (rs79071878) também foi associado a suscetibilidade ao câncer de bexiga (TSAI, 2005; AHIWAR, 2008). Esse VNTR de 70pb geralmente está presente no genoma em alelos de duas repetições (RP1) ou três repetições (RP2), e quando combinado ao polimorfismo -590C>T foi associado ao prognóstico do carcinoma de células escamosa oral e faríngeal (YANG, 2014). Até o momento esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão.

1.4.1.3. Gene Regulador de Genes do Ciclo Celular e do Sistema Imunológico

1.4.1.3.1. *MDM2*

O gene murino minuto duplo (*MDM2*) está localizado no braço longo do cromossomo 12 (12q14.3-q15). Esse gene é um importante regulador negativo do produto do gene supressor de tumor *TP53*, e sua superexpressão pode resultar na inativação em excesso de p53, diminuindo seu efeito supressor tumoral (LU, 2007; VARGAS, 2003; MOMAND and ZAMBETTI, 1997; GENETICS HOME REFERENCE, 2014).

Polimorfismos na região promotora do *MDM2* foram relacionados com o risco de desenvolvimento precoce a diferentes tipos de câncer (WILKENING et al, 2007 and LIU et al, 2011). O SNP na posição -309G>T foi relacionado a diversos tipos de câncer (THUROW, 2011). Estudos de meta-análises demonstraram uma associação significativa entre esse polimorfismo do gene *MDM2* e o risco de câncer de pulmão (HE, 2012). Um estudo recente demonstrou que o polimorfismo 309T>G de *MDM2*

pode ser um dos fatores importantes para o aumento da expressão de *MDM2*. Esse polimorfismo foi associado com a sub-regulação de p53 em pacientes com CPNPC (JAVID, 2015).

Um estudo realizado na população chinesa investigou a associação entre indel de 40pb (rs3730485), no promotor do gene *MDM2* e o risco de carcinoma hepatocelular (HCC). Foi observado um risco aumentado para HCC na presença do alelo de deleção quando comparado com o alelo de inserção, o que é mais acentuando, quando o paciente apresenta história familiar ou está em estágio inicial de HCC (DONG, 2012). O mesmo polimorfismo foi associado ao risco de leiomioma uterino dependente da idade em mulheres na população do Irã (SALIMI, 2015). Esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão até o momento.

1.4.1.3.2. *NFKB1*

O gene fator nuclear do polipeptídeo potencializador do gene kappa em células B-1 (*NFKB1*) está localizado no braço longo do cromossomo 4 (4q24), ele codifica uma proteína de 105 kD, que é processada pelo proteossoma 26S para produzir uma proteína de 50 kD, que é uma subunidade do complexo proteico de *NFKB* (GENE CARDS, 2014). O *NFKB* é um regulador de transcrição que é ativado por vários estímulos intra e extracelulares, tais como citocinas, radicais livres oxidantes, radiação ultravioleta e produtos bacterianos ou virais, sendo que o *NFKB* ativado se desloca para o núcleo, onde vai regular genes envolvidos no ciclo celular, respostas imunológicas inatas e adaptativas (HOFF, 2013).

O polimorfismo no gene *NFKB1* está associado ao risco de câncer de pulmão, contribuindo para a etiologia da doença através de processos relacionados à inflamação e a imunidade. O SNP de *NFKB1* (rs4648127) apresenta associação significativa com o câncer de pulmão (SHIELS, 2012). Outro estudo demonstrou a associação de dois polimorfismos do gene *NFKB1* (rs28362941 e rs78696119) com o aumento do risco de desenvolver o câncer gástrico, principalmente do tipo difuso, estimulando a invasão tumoral e metástase ganglionar (ARISAWA, 2013).

Um estudo na população chinesa demonstrou a relação de um indel de 4pb na região promotora do *NFKB1* (rs28362491) com o risco carcinoma da nasofaringe (NPC). O portadores do alelo ins (ins/ins + del/ins) apresentaram um risco

aumentado de desenvolver NPC (OR = 1,30; IC 95% = 1,09-1,55; P = 2,80 x 10⁻³) em comparação com homozigotos del/del (LIU, 2015). O mesmo polimorfismo foi associado a outros tipos de câncer como os de colo do útero, da tireóide, ovário, próstata, bexiga e câncer colorretal (PALLAVI, 2015; WANG, 2015; YANG, 2014; LI, 2013; CAI, 2013). Esse polimorfismo não foi investigado na suscetibilidade ao câncer de pulmão até o momento.

1.4.1.4. Gene de Reparação do DNA

1.4.1.4.1. *TYMS*

O gene *TYMS* está localizado no braço curto do cromossomo 18 (18p11.32), e codifica uma importante enzima envolvida no metabolismo do folato e no fornecimento de nucleótidos necessários para a síntese e reparação do DNA, chamada de timidilato sintetase (TS). Essa enzima cataliza a conversão do desoxiuridina monofosfato (dUMP) em desoxitimidina monofosfato (dTMP). A dTMP é um dos três nucleótidos (dTMP, dTDP, e dTTP), que formam a timina. A timina é uma base nitrogenada específica do DNA. A inibição da TS causa um aumento dos níveis de dUTP resultando em danos no DNA. (CHAMPE, 2006; GENES CARD, 2015; NCBI, 2015; GUAN, 2015).

A timidilato-sintase (TS), uma enzima crítica para a síntese e reparação do DNA e ao mesmo tempo um potencial biomarcador do prognóstico em tumores. Um estudo das implicações clínicas da expressão TS em tumores gastroenteropancreáticos (GEP) e em neuroendócrinos (NET), observou que NETs, decorrentes do cólon, estômago e pâncreas apresentaram a maior expressão de TS (47,4%, 42,6% e 37,3%, respectivamente), enquanto os NETs do apêndice, reto e duodeno exibiram uma baixa expressão TS (3,3%, 12,9% e 15,4%, respectivamente). A expressão de TS no GEP-NET foi associada com carcinoma endócrino pouco diferenciado, invasão angiolinfática, metástase ganglionar e metástases à distância (p <0,05). Pacientes com NETs TS-positivos tiveram resultados significativamente piores do que os TS-negativos (LEE, 2013).

Um estudo investigou a relação de três polimorfismos do gene *TYMS* com o

risco de desenvolver câncer gástrico e sobrevida do paciente. Um dos polimorfismos investigados (rs16430) foi associado com aumento significativo do risco de câncer gástrico e de sobrevida desses doentes (SHEN, 2014). O mesmo polimorfismo foi associado ao risco de câncer da mama em mulheres brancas não-hispânicas com idades ≤ 55 anos (OR = 1,37; IC 95% = 1,08 - 1,73; P = 0,010 (GUAN, 2015). Não existem até o momento associação desse polimorfismo com a suscetibilidade ao câncer de pulmão.

1.4.1.4.2. XRCC1

O gene de reparação de raios-X em complemento defeituosos em células de hamster chinês 1 (*XRCC1*) está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.31). Esse gene codifica uma proteína, de mesmo nome, que está envolvida na reparação eficiente de quebras de cadeia simples de DNA ocorridas por exposição à radiação ionizante e agentes alquilantes (GENE CARDS, 2014). Variações polimórficas do gene *XRCC1* estão associadas ao risco aumentado do desenvolvimento de tumores. A proteína codificada por esse gene coordena diferentes etapas da via de Reparo de Excisão de Bases (via BER) por meio de interações proteicas com os diferentes componentes enzimáticos dessa via (HOFF, 2013, NCBI, 2015).

Estudos de meta-análises evidenciaram um efeito protetor do polimorfismo *XRCC1 Arg194Trp* para cânceres relacionados com tabaco (HUNG, 2005). Já o polimorfismo *XRCC1 Arg399Gln* foi associado com um risco aumentado de cânceres relacionados ao tabaco, e com um aumento do risco de câncer de pulmão entre asiáticos, mas não entre os caucasianos (KIYOHARA, 2006). Em outro estudo, foi evidenciado que o polimorfismo do gene *XRCC1* (rs1799782) diminui o risco de câncer de pulmão em caucasianos (WANG, 2014).

Um polimorfismo do tipo indel de 4pb (GGCC) do *XRCC1* (rs321323) está localizado na região 5'UTR desse gene, e pode estar relacionado a atividade dessa enzima. Entretanto, esse polimorfismo ainda não foi associado a suscetibilidade do câncer.

1.4.1.5. Gene Regulador da Apoptose

1.4.1.5.1. CASP8

O gene Caspase 8, (*CASP8*) codifica a uma peptidase cisteína relacionada à apoptose, está localizado no braço longo do cromossomo 2 (2q33-q34), apresenta uma cisteína no seu sítio ativo, clivando-as em ácido aspártico (ALBETS, 2012; NCBI, 2015; GENE CARDS, 2015).

A família de genes de caspases (CASP) são conhecidos por estar envolvidos na apoptose, na maturação de citocinas e no crescimento e diferenciação celular (ZHANG, 2013).

A apoptose é iniciada pela ativação da cascata de caspases mitocondrial que ocorre através de duas vias de sinalização: via extrínseca e via intrínseca. As caspases envolvidas com a apoptose são divididas em caspases iniciadoras (2, 8, 9 e 10) e caspases executoras (3, 6 e 7). A via extrínseca da apoptose é ativada por receptores da superfície celular chamados receptores de morte Fas, que são ativados por um ligante Fas da superfície de um linfócito citotóxico, formando a cauda citolítica de Fas, que recruta a proteína adaptadora FADD (domínio de morte associado a Fas). Cada FADD recruta uma procaspase iniciadora (procaspase 8, procaspase 10 ou ambas), formando o complexo de sinalização de morte chamado DISC, que ativa as caspases 8 e 10, que por sua vez, clivam e ativam as procaspases executoras, produzindo uma cascata de caspases, que leva à apoptose (ALBERTS, 2010; ROBBINS & COTRAN, 2010).

CASP8 é um regulador para a apoptose e as suas desregulações desempenham um importante papel na carcinogênese. Estudos sobre a relação de um indel -652 de 6n (rs3834129) nesse gene com o câncer gástrico na população chinesa revelaram que os indivíduos portadores do alelo deleção (del/del ou ins/del) apresentaram uma diminuição do risco de morte em comparação com aqueles com genótipo ins/ins ($P = 0,005$; HR = 0,75, IC 95% = 0,62-0,92) (GU, 2014).

Um estudo examinou a associação dos polimorfismos e haplótipos indel -652 6N e IVS12-19G>A com o risco de câncer de pulmão na população coreana, demonstrando que haplótipos do gene *CASP8* pode contribuir para uma predisposição hereditária para o câncer de pulmão (SON, 2006). O indel -652 6N em

conjunto com o polimorfismo *CASP8* D302H (rs1045485) foi relacionado a diferentes tipos de câncer na população asiática em estudos de meta-análise. O indel -652 6N foi associado à susceptibilidade para o câncer de mama, pulmão e câncer gastrointestinal, enquanto o polimorfismo *CASP8* D302H foi associado apenas ao risco de câncer de mama (JI, 2014).

1.4.1.6. Gene Regulador da Hemostasia

1.4.1.6.1. *PAR1*

O gene *PAR1*, também conhecido como *F2R*, está localizado no braço longo do cromossomo 5 (5q13). O *PAR1* expressa receptores ativados por proteases conhecidos como receptores de trombina, acoplados à proteína G e ativada por clivagem dos seus domínios N-terminais por proteases de serina (trombina). A ativação de *PAR1*, mediada pela trombina, induz a agregação plaquetária e o desenvolvimento vascular, promovendo a ativação de células endoteliais, que promovem a liberação do fator de Von Willebrand, que por sua vez, media a adesão das plaquetas ao subendotélio lesado e mantém os níveis plasmáticos do fator VIII. O *PAR1* também induz a expressão de fatores celulares tais como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e endotelina 1 (ET-1), além de regular múltiplas vias de sinalização de quinases (NCBI, 2015; GENES CARD, 2015).

A ativação do eixo *PAR1*/trombina desencadeia diverentes vias de sinalização que resultam na sobrevivência, apoptose e angiogênese de células endoteliais. Dessa forma, o gene *PAR1* pode estar relacionado também ao processo de crescimento tumoral e na progressão de câncer (MA, 2005; DE MARTINO, 2013).

O polimorfismo rs11267092 (-506 Ins/Del) tem influência na angiogênese através da regulação de fatores do eixo pró-coagulante/anticoagulante e foi associado com a sobrevida livre de doença no câncer de mama (EROĞLU, 2012). Não existem até o momento associação desse polimorfismo com o Câncer de pulmão.

1.4.1.7. Gene de Controle do Ciclo Celular

1.4.1.7.1. *TP53*

O gene *TP53* está localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), este gene codifica uma proteína supressora tumoral de 53 kDa, chamada de p53, encontrada em baixos níveis em condições celulares normais, devido à ação reguladora de MDM2. Entretanto, em resposta a diversos tipos de estresse celular a p53 é rapidamente estabilizado e acumulado no núcleo. A proteína p53 atua na regulação do ciclo celular como um fator de transcrição e bloqueia a progressão do ciclo no final da fase G1, promovendo o reparo do DNA danificado. Se o dano ao genoma for grave, não podendo ser reparado, a p53 induz a célula a apoptose. Devido às várias ações de p53 em prevenir o avanço do ciclo celular e a replicação do DNA danificado, a p53 tem sido retratada como a proteína “guardiã do genoma”, permitindo que a célula mantenha sua integridade genética (WEINBERG, 2008; GIBBONS, 2014; SINGH, 2014; GENES CARD, 2015; NCBI, 2015; BIAN, 2015). Mutações na p53 podem causar a perda das funções supressoras de tumor favorecendo a proliferação celular, a inibição da apoptose e o surgimento de neoplasias e tumores (WEINBERG, 2008; SINGH, 2014; BIAN, 2015).

A perda de função de p53 é um fator chave na carcinogênese, mutações que inativam *TP53* são encontradas na maioria dos tumores humanos, sendo o gene mais frequentemente mutado no câncer. O câncer de pulmão tem uma elevada taxa de mutação específica em p53, estando presente em 46% em adenocarcinoma do pulmão e 81% em células escamosas. Análises de tumores primários e de linhagens celulares de muitos tipos de câncer de pulmão indicam que as regiões do braço curto do cromossoma 17, contendo *TP53*, são frequentemente excluídas (DUFFY, 2014; GIBBONS, 2014). A proteína p53 é um fator de transcrição com 393 aminoácidos que consiste em três domínios diferentes: um domínio N-terminal de ativação de transcrição (TAD), um domínio central de ligação ao DNA (DBD) e um domínio C-terminal de homo-oligomerização (OD). A maioria das mutações que inativam p53 estão localizadas em DBD, e agem impedindo a p53 de se ligar as sequencias específicas do DNA que estão inseridas em seus genes alvo, inibindo dessa forma a ativação transcricional desses genes (SNUSTAD & SIMMONS, 2008).

Um estudo de meta-análise investigou a associação do polimorfismo Arg72Pro do gene supressor de tumor *TP53* com o câncer de esôfago, sugerindo que este polimorfismo contribui para o risco de câncer esofágico, especialmente em asiáticos (ZHAO, 2013). Outra meta-análise demonstrou que o mesmo polimorfismo está associado ao câncer de pulmão. Os portadores do alelo Pro apresentaram um aumento no risco de desenvolver câncer de pulmão ($P < 0,001$; OR = 1,14; e IC 95% = 1,1 - 1,19). Esse risco aumentado foi observado em tabagistas da população asiática (QIAO, 2013).

Um polimorfismo do tipo indel de 16pb (rs17878362) foi associado ao risco de câncer de mama de uma população do Irã (ESKANDARI-NASAB, 2015), e as neoplasias de esôfago e gástrica em uma população da Índia (MALIK, 2011), e aos tumores malignos de mama e colorretal, mas não de câncer de pulmão em uma meta-análise (SAGNE, 2013).

Os polimorfismos de *TP53* (rs17878362 e rs17880560) foram associados à síndrome de Li-Fraumeni/Li-Fraumeni-like (LFS / LFL), uma doença com grandes disparidades individuais, definida por uma série de cânceres de início precoce (carcinoma adrenocortical na infância, carcinoma do plexo coróide, meduloblastoma e rabdomyosarcoma, seguido de sarcoma de tecidos moles, osteosarcoma, câncer de mama na pré-menopausa e tumores cerebrais em adolescentes e adultos jovens). Análise de haplótipos mostrou que em transportadores do haplótipo WT contendo pelo menos um alelo variante de rs17878362 ou rs17880560, o câncer ocorreu 15 anos mais tarde do que nos portadores com outros haplótipos WT (SAGNE, 2014). Não foi observada uma associação positiva desses dois polimorfismos com o câncer de pulmão até o momento.

2 JUSTIFICATIVA

O câncer de pulmão continua sendo um dos tumores malignos cânceres mais comuns em todo o mundo, apresentando um alto índice de morbi-mortalidade. Esse panorama é agravado, infelizmente, pelo diagnóstico realizado de forma tardia, quando esse já apresenta invasão local e metástases distantes. Quanto mais cedo for descoberto, melhores são as chances de sobrevivência do paciente de câncer de pulmão. No entanto, a descoberta de métodos de varredura populacional de pessoas susceptíveis e o diagnóstico precoce do câncer de pulmão é um imenso desafio, sendo essencial ao prognóstico e sobrevivência do paciente (FERREIRA e ROCHA, 2010; PERLIKOS, 2013).

O melhor conhecimento da biologia molecular do câncer de pulmão tem implicações diretas no diagnóstico e tratamento da doença, podendo ser traduzido em benefícios ao paciente, pois permite conhecer fatores prognósticos, preditivos e também determinar alvos terapêuticos de interesse. Dessa forma, a descoberta de novos marcadores moleculares é necessária para melhorar as ações de controle do câncer de pulmão.

Mutações em proto-oncogenes, genes supressores tumorais, genes de regulação da apoptose, genes relacionados ao reparo do DNA são possíveis candidatos a biomarcadores pois atuam de forma importante na regulação e expressão gênica e promoção tumoral (ROBINS, 2010; DUARTE 2005). No câncer de pulmão, polimorfismos em genes relacionados ao sistema imunológico também possuem um papel importante, sendo potenciais biomarcadores (MICHELS, 2003).

A identificação de marcadores de suscetibilidade, severidade, prognóstico, responsividade ou não à terapêutica disponível são extremamente importantes na elaboração de novas estratégias para prevenir o câncer, contudo, para o estabelecimento de associação entre uma variante alélica e uma doença, é necessário estabelecer as frequências de tais variantes polimórficas em populações controle, levando em conta a origem étnica da população (PRITCHARD, 2000; SALZANO, 2000).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, em consequência de mais de cinco séculos de miscigenação entre três populações ancestrais principais: os europeus, os africanos subsaarianos e os ameríndios autóctones. Por causa dessa miscigenação, a população brasileira apresenta

frequências de polimorfismos que variam entre as regiões do país de acordo com a história de colonização (KURTZ-SUAREZ, 2009, MANTA, 2013, PENA, 2011). Na população da Região Norte do Brasil, é observada em média uma contribuição genética europeia de 51%, seguida de 32% ameríndia e de 17% de africana (SANTOS, 2010; MANTA, 2013) e o estudo de variantes genéticas nessa população precisam considerar o efeito da subestruturação populacional.

O conhecimento de polimorfismos que estão envolvidos no risco de desenvolver o câncer de pulmão permitirá estabelecer associações de suscetibilidade com a doença, possibilitando a utilização de marcadores moleculares associados a essa doença como fatores preditivos e de avaliação prognóstica do câncer de pulmão na população estudada. A melhorar a compreensão dos mecanismos moleculares e celulares continua a ser uma questão urgente e essencial, a fim de desenvolver novas estratégias eficazes na prevenção e controle do câncer de pulmão (PERLIKOS, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

Investigar a influência de polimorfismos em 12 genes do sistema imunológico, estabilidade genômica e celular e biotransformação na susceptibilidade ao câncer de pulmão.

3.2. Objetivos Específicos:

- Genotipar 13 polimorfismos do tipo indel nos genes *CASP 8*, *CYP2E1*, *CYP19A1*, *IL1A1*, *IL4*, *MDM2*, *NFKB*, *PAR1*, *TP53*, *TYMS*, *UGT1A1* e *XRCC1* em pacientes com câncer de pulmão.
- Genotipar os mesmos polimorfismos em um grupo controle de pessoas saudáveis (sem câncer).
- Genotipar 48 marcadores de ancestralidade em todos os indivíduos do estudo.
- Estimar a contribuição da ancestralidade individual dos indivíduos relacionados no estudo.
- Estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos nos grupos de pacientes e controle.
- Investigar a associação dos polimorfismos à susceptibilidade ao câncer de pulmão.

4 APLICABILIDADE CLÍNICA

O conhecimento de variações polimórficas que podem estar envolvidas no risco de desenvolver o câncer de pulmão permitirá estabelecer associações de suscetibilidade com a doença. A utilização de marcadores moleculares como fatores preditivos e de avaliação prognóstica do câncer de pulmão possui grande importância para a população estudada, (HOFF, 2013).

Os polimorfismos podem ajudar esclarecer aspectos etiológicos e de progressão do câncer, bem como ajudar a prever a probabilidade de um indivíduo desenvolver a doença no futuro ou passá-lo para a próxima geração. Assim, pode-se ter a opção da realização de exames preventivos que poderão indicar o risco relativo para o desenvolvimento do câncer. Consequentemente abre perspectivas de conduta em relação à exposição a fatores de risco específicos, mudanças de estilo de vida, diminuição do risco adicional ou utilização de medicação preventiva, se disponível. Em outras palavras, pessoas com uma predisposição genética a desenvolver câncer poderão ter a oportunidade de reduzir esse risco. A utilização de polimorfismos como marcadores genéticos traduz-se para a saúde pública como possibilidade de caracterização da suscetibilidade individual ao câncer, podendo proporcionar novas perspectivas para o esclarecimento etiológico, prevenção e diagnóstico precoce, bem como para o aconselhamento genético e desenvolvimento de novas terapias gênicas, reduzindo custos com tratamentos e internações (VIEIRA, 2013).

Nesse contexto, o conhecimento e a utilização de potenciais marcadores de suscetibilidade ao câncer de pulmão, como possíveis ferramentas para prognóstico e detecção de fatores de risco, contribuirá substancialmente para o entendimento da etiologia multifatorial da doença, prevenção de complicações, promovendo uma melhoria na qualidade de vida dos pacientes. A compreensão de fatores de suscetibilidade ao câncer de pulmão pode ajudar no desenvolvimento de ferramentas para estudos de varredura populacional que ajudem na identificação de pessoas com mais risco de desenvolver a doença.

5 METODOLOGIA

5.1. Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo transversal, quantitativo e caso-controle.

5.2. Amostra

A pesquisa foi constituída por 77 pacientes assistidos pelo Hospital Universitário João de Barros Barreto, com diagnóstico confirmado de câncer de pulmão consistindo em um Grupo com Câncer e de 129 indivíduos da mesma população, que não tenham câncer, portadores de outras doenças crônicas com idade igual ou superior a 60 anos, de ambos os gêneros, consistindo um grupo controle.

5.2.1. Critérios de Inclusão

Foram aceitos no estudo, pacientes de ambos os gêneros, fumantes ou não fumantes, regularmente matriculados no Hospital Universitário João de Barros Barreto, fazendo uso de qualquer serviço do hospital, que demonstrarem interesse em participar da pesquisa através da assinatura do TCLE.

5.2.2. Critérios de Exclusão

Pacientes sem a confirmação do diagnóstico de câncer de pulmão ou portadores de outros tipos de câncer que não os enquadrem nos grupos de estudo.

5.3. Coleta de Dados

Dados sociodemográficos como nome, gênero, idade, cor da pele, tabagismo foram coletados de todos os participantes. Também foram pesquisados dados clínicos como, outras doenças, tipo de câncer de pulmão e classificação TMN.

Todos os participantes foram esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa. Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os dados

dos pacientes sobre a história clínica, hábitos, data de nascimento, antecedentes, ou qualquer outro fator que possa influenciar no resultado da pesquisa, assim como resultados de exames complementares, foram coletados em fichas específicas.

5.4. Análises Moleculares

5.4.1. Extração de DNA

O DNA genômico dos pacientes foi extraído a partir de uma amostra de sangue periférico através do sistema comercial de extração de DNA QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Alemanha) conforme as instruções do fabricante. A concentração e pureza do DNA extraído foi verificada com o auxílio do espectrofotômetro NanoDrop ND-1000 (New England Biolabs), e as amostras foram armazenadas a - 20° C para posterior utilização.

5.4.2. Marcadores de Suscetibilidade

Os 13 polimorfismos do estudo foram genotipados por uma reação de PCR multiplex seguida de uma eletroforese capilar (Tabela 6). Para as amplificações foram utilizados 0,5 µL do kit QIAGEN Multiplex PCR (QIAGEN, Alemanha), 1,0 µL de Q-solution, 1,0 µL de Primer Mix, 2,0 µL de água e 20 ng de DNA. A PCR foi realizada seguindo o protocolo a seguir: uma desnaturação inicial a 95°C por 15 minutos, 35 ciclos a 94 °C por 45 segundos, 60°C por 90 segundos e 72°C por 60 segundos, seguidos de um extensão final de 70°C por 30 minutos.

Tabela 6. Caracterização técnica dos polimorfismos investigados

Gene	Identif.	Tipo	Comp.	Primers	Amplif.
<i>CASP8</i>	rs3834129	INDEL	6 pb	F-5'CTCTTCAATGCTTCCTTGAGGT3' R-5'CTGCATGCCAGGAGCTAAGTAT3'	249-255 pb
<i>CYP2E1</i>	-	INDEL	96 pb	F-5'TGTCCCAATACAGTCACCTCTTT3' R-5'GGCTTTTATTTGTTTTGCATCTG3'	303-399 pb
<i>CYP19A1</i>	rs11575899	INDEL	3 pb	F-5'TGCATGAGAAAGGCATCATATT3' R-5'AAAAGGCACATTCATAGACAAAAA3'	122-125 pb
<i>IL1A</i>	rs3783553	INDEL	4 pb	F-5'TGGCCAAGTTGTGCTTATCC3' R-5'ACAGTGGTCTCATGGTTGTCA3'	230-234 pb
<i>IL4</i>	rs79071878	VNTR	70 pb (1/2/3 repeats)	F-5'AGGGTCAGTCTGGCTACTGTGT3' R-5'CAAATCTGTTCACCTCAACTGC3'	147/217/ 287 pb
<i>MDM2</i>	rs3730485	INDEL	40 pb	F-5'GGAAGTTTCCTTTCTGGTAGGC3' R-5'TTTGATGCGGTCTCATAAATTG3'	192-232 pb
<i>NFKB1</i>	rs28362491	INDEL	4 pb	F-5'TATGGACCGCATGACTCTATCA3' R-5'GGCTCTGGCATCCTAGCAG3'	366-370 pb
<i>PAR1</i>	rs11267092	INDEL	13 pb	F-5'AAAAGTGAAGTTTGCCGGTGT3' R-5'GGCCTAGAAGTCCAAATGAG3'	265-277 pb
<i>TP53</i>	rs17878362	INDEL	16 pb	F-5'GGGACTGACTTTCTGCTCTTGT3' R-5'GGGACTGTAGATGGGTGAAAAG3'	148-164 pb
<i>TP53</i>	rs17880560	INDEL	6 pb	F-5'TCCATTCATAACTCAGGAACCA3' R-5'TTAAATCCCGTAATCCTTGGTG3'	140-146 pb
<i>TYMS</i>	rs16430	INDEL	6 pb	F-5'ATCCAAACCAGAATACAGCACAA3' R-5'CTCAAATCTGAGGGAGCTGAGT3'	213-219 pb
<i>UGT1A1</i>	rs8175347	VNTR	2 pb TA (5/6/7/8 repeats)	F-5'CTCTGAAAGTGAAGTCCCTGCT3' R-5'AGAGGTTCCGCCCTCTCCTAT3'	133/135/ 137/139 pb
<i>XRCC1</i>	rs3213239	INDEL	4 pb	F-5'GAACCAGAATCCAAAAGTGACC3' R-5'AGGGGAAGAGAGAGAAGGAGAG3'	243-247 pb

5.4.3 Marcadores Informativos de Ancestralidade

Um conjunto de 48 marcadores informativos de ancestralidade foi utilizado para estimar a proporção das contribuições genéticas individuais ameríndia, europeia e africana dos indivíduos participantes do estudo. Os marcadores foram genotipados em três reações de PCR, e discriminados por eletroforese capilar como

descrito anteriormente (SANTOS, 2010).

5.5 Análises Estatísticas

As características demográficas e clínicas foram comparadas entre os grupos pelos testes de Qui-quadrado de Pearson, Teste exato de Fisher, Wilcoxon-Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. As proporções individuais das ancestralidades genéticas europeia, africana e ameríndia foram estimadas através do software STRUCTURE 2.3.3 (PRITCHARD et al, 2000) assumindo três populações parentais (Europeus, Africanos e Ameríndios).

As frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos foram determinadas por contagem direta dos alelos, e em seguida foi calculado o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). O desequilíbrio de ligação entre os polimorfismos do gene *TP53* foram verificados pelo coeficiente de ligação (D') e o coeficiente de correlação (r^2) utilizando o programa Haploview. O teste Qui-quadrado de Pearson ou quando necessário o teste exato de Fisher foram usados para fazer a comparação da distribuição da frequência dos alelos e dos genótipos dos polimorfismos nos subgrupos da população estudada (câncer e controles). Polimorfismos que apresentaram uma diferença maior que 20% entre as frequências genótípicas foram analisados por modelos de regressão logística. Foram realizados modelos de regressão logística controlando pelas co-variáveis sexo, idade e tabagismo para determinar o risco dos genótipos na susceptibilidade ao câncer de pulmão.

As análises estatísticas foram realizadas usando o software SPSS v.18 utilizando um nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

6.1 Características clínicas da amostra em estudo

Os dados demográficos e clínicos dos participantes do estudo estão apresentados na tabela 7. O estudo foi composto por 77 pacientes com câncer de pulmão (casos) e 129 indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, da mesma população, que não desenvolveram nenhum tipo câncer (controles) durante a vida. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas na idade, gênero e tabagismo entre os grupos estudados. Entretanto o número médio de cigarros ao ano não diferiu entre os grupos.

Tabela 7. Características clínicas e demográficas dos pacientes com câncer de pulmão e sem câncer.

Características	Câncer	Controles	P
Número Amostral	77	129	
Idade	61,7 ± 9,4	70,1 ± 8,9	<0,001^a
Gênero			
Masculino	53 (70,7)	50 (38,8)	<0,001^b
Feminino	22 (29,3)	79 (61,2)	
Tabagismo			
Não Fumante	13 (17,8)	62 (48,4)	
Ex-Fumante	24 (32,9)	61 (47,7)	<0,001^b
Fumante	36 (49,3)	5 (3,9)	
Número médio cigarros/ano	3844,6 ± 5645,3	2663,3 ± 5856,9	0,239 ^a

Idade é apresentada como média ± desvio padrão e as outras características são apresentadas como número absoluto (porcentagem)

^aTeste de Wilcoxon-Mann-Withney

^bTeste Exato de Fisher

6.2 Características do tumor

As características histológicas e de estadiamento dos tumores dos pacientes estão descritas na tabela 8. Para aproximadamente 90% dos tumores não se obteve

informações sobre o estadiamento ou essas informações não estavam disponíveis. Histologicamente os tumores se apresentaram como CPPC em 1,3% dos casos e CPNPC em 84,4% dos casos, sendo que 14,3% dos casos não possuem laudo histológico. Dentre os CPNPC observou-se uma proporção de 46,2% carcinoma epidermóide, seguido por 16,9% de carcinoma de células grandes, e 15,4% de adenocarcinoma. Entretanto 21% não desses tumores não tiveram uma classificação mais específica.

Tabela 8. Características de estadiamento e tipo histológico dos tumores de pulmão.

Características do Tumor	Pacientes
Estadiamento	
T2	1 (1,3%)
T3	3 (3,9%)
T4	3 (3,9%)
Não Estadiado	70 (90,9%)
Tipo Histológico	
Sem Laudo	11 (14,3%)
Pequenas células	1 (1,3%)
Não pequenas células	65 (84,4%)

6.3 Estrutura da população

Devido à heterogeneidade da população investigada, uma estimativa da ancestralidade genética individual foi realizada para todos os indivíduos incluídos no estudo. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as proporções de ancestralidades genéticas entre os grupos casos e controles (Figura 10 e Tabela 9).

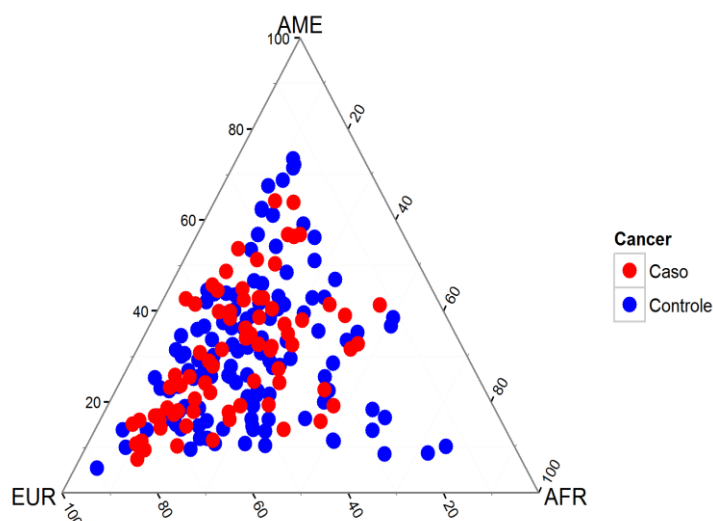


Figura 10. Indivíduos são representados pelos pontos, e as proporções de miscigenação são indicadas pela distância dos vértices do triângulo. Pacientes com câncer de pulmão estão representados em vermelho e os pacientes do grupo controle sem câncer estão representados em azul.

Tabela 9. Médias e variação das proporções de ancestralidades genéticas (%) dos grupos indivíduos com câncer ou sem câncer.

Ancestralidade	Câncer		Controles		P
Ameríndia	30,4 ± 13,9	(7,4 – 64,1)	30,7 ± 15,4	(5,4 – 73,4)	0,868
Européia	48,5 ± 17,2	(12,6 – 80,5)	45,1 ± 16,7	(11,3 – 89,9)	0,239
Africana	21,1 ± 10,6	(4,7 – 42,7)	24,2 ± 14,1	(4,7 – 75,5)	0,225

O grupo de câncer e o grupo controles são apresentadas como média ± desvio padrão e em valores máximos e mínimos.

6.4. Associação entre os Polimorfismos e à suscetibilidade ao câncer

A distribuição alélica e genotípica dos polimorfismos dos genes *CASP 8*, *CYP2E1*, *CYP19A1*, *IL1A1*, *IL4*, *MDM2*, *NFKB*, *PAR1*, *TP53*, *TYMS*, *UGT1A1* e *XRCC1* são apresentadas na tabela 10. A frequência observada de todos os polimorfismos está de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os polimorfismos do gene *TP53* não apresentaram desequilíbrio de ligação ($D' = 0,53$ e $r^2 = 0,013$).

Os polimorfismos dos genes *TP53* (rs17878362 e rs17880560), *IL1A* (rs3783553) e *PAR1* (rs11267092) apresentaram uma diferença maior que 20% nas frequências genotípicas entre os pacientes com câncer e indivíduos do grupo controle, e foram posteriormente analisados por uma regressão logística.

Tabela 10. Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos em estudo nos pacientes com e sem câncer de pulmão.

Indel	Identificação	Genótipos/Alelos	Câncer (%)	Controles (%)	P*
<i>CYP19A1</i>	rs11575899	Del/Del	12 (15,6)	18 (14,1)	0,509
		Del/Ins	37 (48,1)	72 (56,3)	
		Ins/Ins	28 (36,4)	38 (29,7)	
		Del	61 (39,6)	108 (42,2)	0,608
		Ins	93 (60,4)	148 (57,8)	
<i>TP53</i>	rs17880560	Del/Del	42 (54,5)	88 (68,8)	0,121
		Del/Ins	31 (40,3)	36 (28,1)	
		Ins/Ins	4 (5,2)	4 (3,1)	
		Del	115 (74,7)	212 (82,8)	0,047
		Ins	39 (25,3)	44 (17,2)	
<i>NFKB1</i>	rs28362491	Del/Del	13 (16,9)	33 (25,8)	0,302
		Del/Ins	40 (51,9)	56 (43,8)	
		Ins/Ins	24 (31,2)	39 (30,5)	
		Del	66 (42,9)	122 (47,7)	0,359
		Ins	88 (57,1)	134 (52,3)	
<i>TYMS</i>	rs16430	Del/Del	8 (10,4)	15 (11,7)	0,954
		Del/Ins	42 (54,5)	68 (53,1)	
		Ins/Ins	27 (35,1)	45 (35,2)	
		Del	58 (37,7)	98 (38,3)	0,901
		Ins	96 (62,3)	158 (61,7)	
<i>IL1A</i>	rs3783553	Del/Del	8 (10,4)	20 (15,6)	0,187
		Del/Ins	37 (48,1)	70 (54,7)	
		Ins/Ins	32 (41,6)	38 (29,7)	
		Del	53 (34,4)	110 (43,0)	0,087
		Ins	101(65,6)	146 (57,0)	
<i>CASP8</i>	rs3834129	Del/Del	18 (23,4)	23 (18,0)	0,509
		Del/Ins	35 (45,5)	68 (53,1)	
		Ins/Ins	24 (31,2)	37 (28,9)	
		Del	71 (46,1)	114 (44,5)	0,757
		Ins	83 (53,9)	142 (55,5)	
<i>UGT1A1</i>	rs8175347	*1/*1	32 (41,6)	55 (43,0)	0,886
		*1/*28	32 (41,6)	56 (43,8)	
		*28/*28	12 (15,6)	15 (11,7)	
		*28/*36	1 (1,3)	2 (1,6)	

		*1	97 (62,9)	168 (65,6)	
		*28	56 (36,4)	86 (33,6)	0,950
		*36	1 (0,6)	2 (0,8)	
<i>TP53</i>	rs17878362	Del/Del	50 (64,9)	99 (77,3)	
		Del/Ins	26 (33,8)	27 (21,1)	0,133
		Ins/Ins	1 (1,3)	2 (1,6)	
		Del	126 (81,8)	225 (87,9)	0,090
		Ins	28 (18,2)	31 (12,1)	
<i>MDM2</i>	rs3730485	Del/Del	5 (6,5)	8 (6,3)	
		Del/Ins	24 (31,2)	45 (35,2)	0,842
		Ins/Ins	48 (62,3)	75 (58,6)	
		Del	34 (22,1)	61 (23,8)	0,684
		Ins	120 (77,9)	195 (76,2)	
<i>IL4</i>	rs79071878	RP1/RP1	10 (13,0)	20 (15,6)	
		RP1/RP2	41 (53,2)	55 (43,0)	0,360
		RP2/RP2	26 (33,8)	53 (41,4)	
		RP1	61 (39,6)	95 (37,1)	0,613
		RP2	93 (60,4)	161 (62,9)	
<i>PAR1</i>	rs11267092	Del/Del	26 (34,2)	68 (53,1)	
		Del/Ins	37 (48,7)	52 (40,6)	0,007
		Ins/Ins	13 (17,1)	8 (6,3)	
		Del	89 (58,6)	188 (73,4)	0,002
		Ins	63 (41,4)	68 (26,6)	
<i>XRCC1</i>	rs3213239	Del/Del	2 (2,6)	9 (7,0)	
		Del/Ins	29 (37,7)	45 (35,2)	0,391
		Ins/Ins	46 (59,7)	74 (57,8)	
		Del	33 (21,4)	63 (24,6)	0,461
		Ins	121 (78,6)	193 (75,4)	
<i>CYP2E1</i>	-	Del/Del	60 (77,9)	104 (81,3)	
		Del/Ins	17 (22,1)	23 (18,0)	0,582
		Ins/Ins	0 (0)	1 (8)	
		Del	137 (89,0)	231 (90,2)	0,680
		Ins	17 (11,0)	25 (9,8)	

*Valores de Teste de Qui-Quadrado de Person ou exato de Fisher quando necessário

A regressão logística foi realizada padronizando os genótipos de maior frequência como a referência para comparação e utilizando as variáveis gênero, idade e tabagismo como confundidores (Tabela 11). Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre os polimorfismos dos genes *TP53*, *IL1A* e *PAR1* e a susceptibilidade ao câncer utilizando os modelos genéticos codominantes, dominantes ou recessivos. Para o indel rs17878362 do gene *TP53* foi utilizado apenas o modelo dominante devido a baixa frequência do alelo Ins observada na população estudada.

Tabela 11. Análise de regressão logística comparando os genótipos entre os grupos caso e controle.

Gene	Indel	Genótipos		OR	IC 95%	P
		Referência	Risco			
<i>TP53</i>	rs17880560	Del/Del	Del/Ins	1,770	0,765 – 3,961	0,187
			Ins/Ins	0,937	0,125 – 7,009	0,937
		Del/Del+Del/Ins	Del/Ins+Ins/Ins	1,630	0,737 – 3,604	0,227
			Ins/Ins	0,778	0,107 – 5,657	0,804
<i>TP53</i>	rs17878362	Del/Del	Del/Ins+Ins/Ins	1,259	0,537 – 2,951	0,596
<i>IL1A</i>	rs3783553	Ins/Ins	Del/Ins	0,987	0,284 – 3,423	0,983
			Del/Del	0,713	0,307 – 1,653	0,430
		Ins/Ins+Del/Ins	Del/Ins+Del/Del	0,758	0,339 – 1,699	0,501
			Del/Del	1,218	0,393 – 3,782	0,732
<i>PAR1</i>	rs11267092	Del/Del	Del/Ins	1,645	0,730 – 3,710	0,230
			Ins/Ins	2,055	0,513 – 8,236	0,309
		Del/Del+Del/Ins	Del/Ins+Ins/Ins	1,705	0,779 – 3,732	0,182
			Ins/Ins	1,565	0,421 – 5,819	0,504

As covariáveis incluídas no modelo de regressão logística foram sexo, idade e tabagismo.

7 DISCUSSÃO

O câncer de pulmão é um problema mundial por ser uma doença com alta incidência e mortalidade. Apesar do principal fator de risco ambiental modificável, o tabagismo, ser conhecido, ainda é difícil realizar o controle dessa doença. Atualmente o diagnóstico é realizado de forma tardia, principalmente em países menos desenvolvidos.

A compreensão de fatores de suscetibilidade a essa doença pode ajudar no desenvolvimento de ferramentas para estudos de varredura populacional que ajudem na identificação de pessoas com mais risco de desenvolver o câncer.

No presente estudo foram investigados 13 polimorfismos do tipo indel em genes do metabolismo e biotransformação (CYP2E1, CYP19A1 e UGT1A1), genes de controle do sistema imunológico e resposta inflamatória (*IL1A* e *IL4*), genes que regulam a função de genes de controle do ciclo celular e do sistema imunológico (*MDM2* e *NFKB1*), genes de reparação do DNA (*TYMS* e *XRCC1*), gene regulador da apoptose (*CASP 8*), gene regulador da homeostasia (*PAR1*) e gene de controle do ciclo celular (*TP53*), quanto a suscetibilidade ao câncer de pulmão. Nenhum dos polimorfismos investigados foi associado ao câncer de pulmão após realizar uma análise considerando outros fatores relacionados a essa doença, como idade, sexo e tabagismo. Todos os genes estudados já foram relacionados ao desenvolvimento do câncer e possuem funções importantes para a homeostase celular e integridade do organismo. Os polimorfismos estudados promovem modificações funcionais nesses genes, e muitos não tinham sido estudados na suscetibilidade ao câncer de pulmão anteriormente, sendo nesse sentido resultados importantes.

O estudo foi realizado utilizando um grupo controle de indivíduos acima dos anos 60 que não desenvolveram câncer durante o curso de vida. Interessantemente os pacientes de câncer de pulmão apresentaram uma idade inferior ao grupo controle em média, o que deve estar relacionado com a maior frequência de tabagismo entre esses indivíduos.

As principais limitações do estudo apresentado foram o número amostral reduzido e a falta de caracterização dos tipos tumorais. Devido a esses dois fatores não foi possível investigar a influência das variantes genéticas na susceptibilidade dos diferentes tipos tumorais. A falta dos dados de caracterização tumoral reflete, muitas vezes, a entrada de pacientes em estágio muito avançados da doença para o

tratamento.

A identificação de marcadores genéticos para a suscetibilidade do câncer de pulmão possui grande potencial para ajudar na prevenção e controle dos casos de câncer de pulmão, e futuros estudos nessa linha de pesquisa são necessários para a identificação de novos marcadores genéticos.

8 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente dissertação demonstram que os 13 polimorfismos nos genes *CASP8*, *CYP2E1*, *CYP19A1*, *IL1A1*, *IL4*, *MDM2*, *NFKB*, *PAR1*, *TP53*, *TYMS*, *UGT1A1* e *XRCC1* estudados, não estão associados à suscetibilidade ao câncer de pulmão na população do Pará estudada.

As características clínicas e demográficas dos grupos de indivíduos estudados (casos e controles) demonstraram diferenças estatisticamente significativas quanto à idade, gênero e tabagismo. Já o número médio de cigarros consumidos ao ano, não diferiu entre os grupos.

Em virtude da heterogeneidade da população investigada, uma estimativa da ancestralidade genética individual foi realizada para todos os indivíduos incluídos no estudo. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as proporções de ancestralidades genéticas entre os grupos casos e controles.

Estimando-se as frequências alélicas e genotípicas dos 13 polimorfismos nos grupos de pacientes e controle, foi observado que os polimorfismos dos genes *TP53* (rs17878362 e rs17880560), *IL1A* (rs3783553) e *PAR1* (rs11267092) apresentaram uma diferença maior que 20% nas frequências genotípicas entre os pacientes com câncer e os indivíduos do grupo controle. Estes 4 polimorfismos foram posteriormente analisados por uma regressão logística, utilizando as variáveis gênero, idade e tabagismo como confundidores, não sendo observadas associações estatisticamente significativas entre os polimorfismos dos genes *TP53*, *IL1A* e *PAR1* e a susceptibilidade ao câncer utilizando os modelos genéticos codominantes, dominantes ou recessivos.

REFERÊNCIAS

AHIRWAR, D; KESARWANI, P; MANCHANDA, P.K; MANDHANI, A; MITTAL, R.D. Anti- and proinflammatory cytokine gene polymorphism and genetic predisposition: association with smoking, tumor stage and grade, and bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in bladder cancer. **Cancer Genet Cytogenet**. 2008 Jul; 184(1):1-8.

ALBERTS, B; JOHNSON, A; LEWIS, J; RAFF, M; ROBERTS, K; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

ALGRANTI, E; BUSCHINELLI, J.T.P; CAPITANI, E.M. Câncer de pulmão ocupacional. **J Bras Pneumol**. 2010; 38(5):643-655.

ARBEX, M.A; SANTOS, U.P; MARTINS, L.C; SALDIVA, P.H.N; PEREIRA, L.A.A; BRAGA, A.L.F. A poluição do ar e o sistema respiratório. **J Bras Pneumol**. 2012; 38(5):643-655.

ARISAWA, T; TAHARA, T; SHIROEDA, H; YAMADA, K; NOMURA, T; YAMADA, H; HAYASHI, R; MATSUNAGA, K; OTSUKA, T; NAKAMURA, M; SHIMASAKI, T; TOSHIKUNI, N; KAWADA, N; SHIBATA, T. Functional promoter polymorphisms of NFKB1 influence susceptibility to the diffuse type of gastric cancer. **Oncol Rep**. 2013 Dec;30(6):3013-9.

APTE, R.N; VORONOV, E. Interleukin-1--a major pleiotropic cytokine in tumor-host interactions. **Semin Cancer Biol**. 2002 Aug;12(4):277-90.

BAJRO, M.H; JOSIFOVSKI, T; PANOVSKI, M; JANKULOVSKI, N; NESTOROVSKA, A.K; MATEVSKA, N; PETRUSEVSKA, N; DIMOVSKI, A.J. Promoter length polymorphism in UGT1A1 and the risk of sporadic colorectal cancer. **Cancer Genet**. 2012 Apr;205(4):163-7.

BERNE & LEVY. **Fisiologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

BIAN, C; LI, Z; XU, Y; WANG, J; XU, L; SHEN, H. Clinical significance of mutant p53 protein expression in lung adenocarcinoma. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2015 Jan;18(1):23-8.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **TNM: classificação de tumores malignos** / traduzido por Ana Lúcia Amaral Eisenberg. 6. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2004.

BRAUNWALD, E; KASPER, D.L; FAUCI, A.S; JAMESON, L; LONGO, D.L; HAUSER, S. **Medicina Interna de Harrison**. 18 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

CAI, H; SUN, L; CUI, L; CAO, Q; QIN, C; ZHANG, G; MAO, X; WANG, M; ZHANG, Z; SHAO, P; YIN, C. A functional insertion/deletion polymorphism (-94 ins/del ATTG) in the promoter region of the NFKB1 gene is related to the risk of renal cell carcinoma. **Urol Int**. 2013;91(2):206-12.

CATUCCI, I; VERDERIO, P; PIZZAMIGLIO, S; MANOUKIAN, S; PEISSEL, B; ZAFFARONI, D; ROVERSI, G; RIPAMONTI, C.B; PASINI, B; BARILE, M; VIEL, A; GIANNINI, G; PAPI, L; VARESCO, L; MARTAYAN, A, RIBONI, M; VOLORIO, S; RADICE, P; PETERLONGO, P. The CASP8 rs3834129 polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers. **Breast Cancer Res Treat.** 2011 Feb;125(3):855-60.

CHAMPE, P.C; HARVEY, R.A; FERRIER, D.R. **Bioquímica Ilustrada.** 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

CHEN, C; SAKODA, L.C; DOHERTY, J.A; LOOMIS, M.M; FISH, S; RAY, R.M; LIN, M.G; FAN, W; ZHAO, L.P; GAO, D.L; STALSBERG, H; FENG, Z; THOMAS, D.B. Genetic variation in CYP19A1 and risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions among women in Shanghai, China. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 2008 Dec;17(12):3457-66.

CHEN, D; MA, T; LIU, X.W; LIU, Z. CASP-8 -652 6N ins/del polymorphism and cancer risk: A literature-based systematic HuGE review and meta-analysis. **Exp Ther Med.** 2012 Oct;4(4):762-770. Epub 2012 Aug 13.

CLENDENEN, T; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A; WIRGIN, I; KOENIG, K.L; AFANASYEVA, Y; LUNDIN, E; ARSLAN, A.A; AXELSSON, T; FÖRSTI, A; HALLMANS, G; HEMMINKI, K; LENNER, P; ROY, N; SHORE, R.E; CHEN, Y. Genetic variants in hormone-related genes and risk of breast cancer. **PLoS One.** 2013 Jul 23;8(7):e69367.

CLENDENEN, T; ZELENIUCH, J.A; WIRGIN, I; KOENIG, K.L; AFANASYEVA, Y; LUNDIN, E; ARSLAN, A, A; AXELSSON, T; FÖRSTI, A; HALLMANS, G; HEMMINKI, K; LENNER, P; ROY, N; SHORE, R.E; CHEN, Y. Genetic variants in hormone-related genes and risk of breast cancer. **PLoS One.** 2013 Jul 23;8(7):

COICO, R. SUNSHINE, G. **Imunologia.** 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

COUTO, M.B.S; CAMPELO, V.R.C. A ANVISA na redução à exposição involuntária à fumaça do tabaco. **Brasil:** Ministério da Saúde. Gerência de produtos derivados do tabaco / Agência Nacional de Vigilância Sanitária – GPDTA/ANVISA, 2009.

DE MARTINO, M; HAITEL, A; SCHATZL, G; KLINGLER, H.C; KLATTE, T. The CASP8 -652 6N insertion/deletion promoter polymorphism is associated with renal cell carcinoma risk and metastasis. **J Urol.** 2013 Aug;190(2):717-22.

DE MARTINO, M; HAITEL, A; SCHATZL, G; KLATTE, T. The protease activated receptor 1 gene variation IVSn -14 A>T is associated with distant metastasis and cancer specific survival in renal cell carcinoma. **J Urol.** 2013 Oct;190(4):1392-7.

DEMING, S.L; ZHENG, W; XU, W.H; CAI, Q; RUAN, Z; XIANG, Y.B; SHU, X.O. UGT1A1 GENETIC polymorphisms, endogenous estrogen exposure, soy food intake, and endometrial cancer risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 2008 Mar;17(3):563-70

DINARELLO, C.A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annu Rev Immunol.** 2009;27:519-50.

DONG, D; GAO, X; ZHU, Z; YU, Q; BIAN, S; GAO, Y. A 40-bp insertion/deletion polymorphism in the constitutive promoter of MDM2 confers risk for hepatocellular carcinoma in a Chinese population. **Gene.** 2012 Apr 10;497(1):66-70. doi: 10.1016/j.gene.2012.01.004.

DUARTE, MC; COLOMBO, J; ROSSIT, ARB; WORNATH, D; SILVA, AE. Polimorfismo dos genes de reparo do DNA XRCC1 e XRCC3 em câncer gástrico e gastrite crônica e sua interação com fatores ambientais. In: 51º **Congresso Brasileiro de Genética**, 2005, Águas de Lindoia. São Paulo: SBG, 2005.

DUFFY, M.J; SYNNOTT, N.C; MCGOWAN, P.M; CROWN, J; O'CONNOR, D; GALLAGHER, W.M. p53 as a target for the treatment of cancer. **Cancer Treat Rev.** 2014 Dec;40(10):1153-60.

ENGELS, E.A; WU, X; GU, J; DONG, Q; LIU, J; SPITZ, M.R. Systematic evaluation of genetic variants in the inflammation pathway and risk of lung cancer. **Cancer Res.** 2007 Jul 1;67(13):6520-7.

EROĞLU, A1; KARABIYIK, A; AKAR, N. The association of protease activated receptor 1 gene -506 I/D polymorphism with disease-free survival in breast cancer patients. **Ann Surg Oncol.** 2012 Apr; 19 (4): 1365-9.

FERREIRA, C.G; ROCHA, J.C. **Oncologia Molecular.** 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

ESKANDARI-NASAB, E; HASHEMI, M; AMININIA, S; EBRAHIMI, M; REZAEI, M; HASHEMI, S.M. Effect of TP53 16-bp and β -TrCP 9-bp INS/DEL polymorphisms in relation to risk of breast cancer. **Gene.** 2015 Sep 1;568(2):181-5.

FERGUSON, L.R; CHEN, H; COLLINS, A.R; CONNELL, M; DAMIA, G; DASGUPTA, S; MALHOTRA, M; MEEKER, A.K; AMEDEI, A; AMIN, A; ASHRAF, S.S; AQUILANO, K; AZMI, A.S; BHAKTA, D; BILSLAND, A; BOOSANI, C.S; CHEN, S; CIRIOLO, M.R; FUJII, H; GUHA, G; HALICKA, D; HELFERICH, W.G; KEITH, W.N; MOHAMMED, S.I; NICCOLAI, E; YANG, X; HONOKI, K; PARSLOW, V.R; PRAKASH, S; REZAZADEH, S; SHACKELFORD, R.E; SIDRANSKY, D; TRAN, P.T; YANG, E.S; MAXWELL, C.A. Genomic instability in human cancer: Molecular insights and opportunities for therapeutic attack and prevention through diet and nutrition. **Semin Cancer Biol.** 2015 Apr 10. pii: S1044-579X(15)00020-6

GAO, J; XU, H.L; GAO, S; ZHANG, W; TAN, Y.T; ROTHMAN, N; PURDUE, M; GAO, Y.T; ZHENG, W; SHU, X.O; XIANG, Y.B. Genetic polymorphism of NFKB1 and NFKBIA genes and liver cancer risk: a nested case-control study in Shanghai, China. **BMJ Open.** 2014 Feb 27;4(2):e004427.

GENECARDS. **The Human Gene Database.** Disponível em: <<http://www.genecards.gov/>> Acesso em: 27 de novembro de 2014.

GENETICS HOME REFERENCE DATABASE. Disponível em: <<http://ghr.nlm.nih.gov/>> Acesso em: 21 de outubro de 2014.

GIANNOPOULOU, E; SIATIS, K.E; METSIU, D; KRITIKOU, I; PAPACHRISTOU, D.J; KALOFONOU, M; KOUTRAS, A; ATHANASSIOU, G; KALOFONOS, H.P. A inibição de aromatase altera as propriedades mecânicas e reológicas do pulmão de células não-pequenas linhas celulares de cancro que afectam a migração celular. **Biochim Biophys Acta**. 2015 Feb; 1853 (2): 328-37.

GIBBONS, D.L; BYERS, L.A; KURIE, J.M. Smoking, p53 mutation, and lung cancer. **Mol Cancer Res**. 2014 Jan;12(1):3-13.

GOLDSTRAW, P; CROWLEY, J; CHANSKY, K. et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM Classification of malignant tumours. **J Thorac Oncol**. 2007;2:706-14. 2007.

GOMES, M; COELHO, A; ARAÚJO, A; TEIXEIRA, A.L; CATARINO, R; MEDEIROS, R. Influence of functional genetic polymorphism (-590C/T) in non-small cell lung cancer (NSCLC) development: the paradoxal role of IL-4. **Gene**. 2012 Aug 1;504(1):111-5.

GOMES, M; TEIXEIRA, A.L; COELHO, A; ARAÚJO, A; MEDEIROS, R. The role of inflammation in lung cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2014;816:1-23.

GOMPERTS, B.N; SPIRA, A; MASSION, P.P; WALSER, T.C; WISTUBA, I.I; MINNA, J.D; DUBINETT, S.M. Evolving Concepts in Lung Carcinogenesis. **Semin Respir Crit Care Med**. 2011 February ; 32(1): 32-43.

GOMPERTS, B.N; WALSER, B.N; SPIRA, A; DUBINETT, S.M. Enriching the molecular definition of the airway "field of cancerization": establishing new paradigms for the patient at risk for lung cancer. **Cancer Prev Res (Phila)**. 2013 Jan; 6(1): 4-7

GU, D; DU, M; TANG, C; CHU, D; XU, Z; HUO, X.Z; GONG, W; TANG, Y; JIANWEI, Z; TONG, N; XU, Y; ZHANG, Z; WANG, M; CHEN, J. Polimorfismos funcionais em genes da via de apoptose e sobrevivida em pacientes com câncer gástrico. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. 17 fev 2014.

GUAN, X; LIU, H; JU, J; LI, Y; LI, P; WANG, L.E; BREWSTER, A.M; BUCHHOLZ, T.A; ARUN, B.K; WEI, Q; LIU, Z. Genetic variant rs16430 6bp > 0bp at the microRNA-binding site in TYMS and risk of sporadic breast cancer risk in non-Hispanic white women aged ≤ 55 years. **Mol Carcinog**. 2015 Apr;54(4):281-90.

HANAHAN, D; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**. 2011 Mar 4;144(5):646-74.

HARAKSINGH, R.R; SNYDER, M.P. Impacts of variation in the human genome on gene regulation. **J Mol Biol**. 2013 Nov 1;425(21):3970-7.

HARRIS, R.E. Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of

cancers of the colon, breast, prostate, and lung. **Inflammopharmacology**. 2009 Apr;17(2):55-67.

HASHEMI, M; ESKANDARI-NASAB, E; FAZAELI, A; REZAEI, H; MASHHADI, M.A; ARBABI, F; TAHERI, M. Bi-directional PCR allele-specific amplification (bi-PASA) for detection of caspase-8 -652 6N ins/del promoter polymorphism (rs3834129) in breast cancer. **Gene**. 2012 Aug 15;505(1):176-9.

HATA, Y; NAKAOKA, H; YOSHIHARA, K; ADACHI, S; HAINO, K; YAMAGUCHI, H; NISHIKAWA, N; KASHIMA, K; YAHATA, T; TAJIMA, A; WATANABE, A; AKIRA, S; HOSOMICHI, K; INOUE, I; TANAKA, K. A nonsynonymous variant of IL1A is associated with endometriosis in Japanese population. **J Hum Genet**. 2013 Aug;58(8):517-20.

HE, W; LONG, J; XIAN, L; PANG, F; SU, L; WEI, S; WEI, B; HU, Y. MDM2 SNP309 polymorphism is associated with lung cancer risk in women: A meta-analysis using METAGEN. **Exp Ther Med**. 2012 Oct;4(4):569-576.

HOFF P.M.G; et al. **Tratado de Oncologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013.

HUANG, R.Y; CHEN, G.G. Cigarette smoking, cyclooxygenase-2 pathway and cancer. **Biochim Biophys Acta**. 2011 Apr;1815(2):158-69.

HUANG, J; NI, S; LI, D; HE, Y. An Insertion/Deletion Polymorphism at miRNA-122 Binding Site in the IL1A Is Associated with a Reduced Risk of Cervical Squamous Cell Carcinoma. **Genet Test Mol Biomarkers**. 2015 Jun;19(6):331-4.

HUNG, R.J; HALL, J; BRENNAN, P; BOFFETTA, P. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. **Am J Epidemiol**. 2005 Nov 15;162(10):925-42.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx> Acesso em: 17 de maio de 2015.

IKEDA, K1; SHIRAISHI, K; EGUCHI, A; OSUMI, H; MATSUIISHI, K; MATSUBARA, E; FUJINO, K; SHIBATA, H; YOSHIMOTO, K; MORI, T; OMORI, H; SUZUKI, M. Associação de uma variante genética com o desenvolvimento de CYP19A1 multicêntrica de adenocarcinomas do pulmão. **Ann Surg Oncol**. 2014 Mar; 21 (3): 939-45.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil / **Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2014. 124p.: il. col., mapas.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativas 2014**: incidência de câncer no Brasil. 2013. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>> Acesso em: 17 de maio de 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>> Acesso em: 06 de junho de 2014.

JAVID, J; MIR, R; JULKA, P.K; RAY, P.C; SAXENA, A. Associação de p53 e MDM2 no desenvolvimento e progressão do cancro do pulmão de células não-pequenas. **Tumour Biol**. 2015 Feb 12.

JI, G.H; LI, M; CUI, Y; WANG, J.F. A relação de CASP 8 polimorfismo e câncer de susceptibilidade: a meta-análise. **Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)**. 2014 Dec 30;60(6):20-8.

KANDA, S; TSUCHIYA, N; NARITA, S; INOUE, T; HUANG, M; CHIBA, S; AKIHAMA, S; SAITO, M; NUMAKURA, K; TSURUTA, H; SATOH, S; SAITO, S; OHYAMA, C; ARAI, Y; OGAWA, S; HABUCHI, T. Efeitos de polimorfismos genéticos funcionais no gene CYP19A1 no risco de cancro da próstata e sobrevivência. **Int J Cancer** .2015; 136 (1): 74-82.

KATZUNG, B.G; MASTERS, S.B; TREVOR, A.T. **Farmacologia Básica e Clínica**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

KIYOHARA, C; TAKAYAMA, K; NAKANISHI, Y. Association of genetic polymorphisms in the base excision repair pathway with lung cancer risk: a meta-analysis. **Lung cancer**. 2006. Dec;54(3):267-83.

KURTZ, G.S. Farmacogenômica e a diversidade genética da população brasileira. **Card. Saúde Pública**, 2009, Rio de Janeiro, 25(8):1650-1650.

LEE, H.S; CHEN, M; KIM, J.H; KIM, W.H; AHN, S; MAENG, K; ALLEGRA, C.J; KAYE, F.J; HOCHWALD, S.N; ZAJAC-KAYE, M. Análise de 320 tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos identifica expressão TS como biomarcador independente para a sobrevivência. **Int. J. Câncer** 01 de julho 2014; 135 (1): 128-37.

LI, P; GU, J; YANG, X; CAI, H; TAO, J; YANG, X; LU, Q; WANG, Z; YIN, C; GU, M; LI, L; WAN, C; WEN, F.Q. Polymorphisms in the XRCC1 gene are associated with treatment response to platinum chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients based on meta-analysis. **Genet Mol Res**. 2014 May 16;13(2):3772-86.

LIAO, H; ZHANG, L; CHENG, P; PU, Y; WU, Y; LI, Z; XIAO, Y.M; YANG, S.K. Insertion/deletion polymorphism of IL1A 3'-UTR associated with the susceptibility of prostate cancer. **Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban**. 2014 Nov;45(6):956-9.

LIMA, A; SEABRA, V; MARTINS S; COELHO, A; ARAÚJO, A;R MEDEIROS, R. Polimorfismos timidilatosintase estão associados ao desfecho terapêutico de pacientes com câncer avançado de pulmão não pequenas células tratadas com quimioterapia à base de platina. **Mol Biol Rep**. 2014 May; 41 (5): 3349-57.

LIU, Y; QIU, F; YANG, L; YANG, R; YANG, X; HUANG, D; FANG, W; ZHANG, L; JIANG, Q; ZHANG, L; ZHOU, Y; LU, J. Polymorphisms of NFκB1 and IκBα and Their

Synergistic Effect on Nasopharyngeal Carcinoma Susceptibility. **Biomed Res Int.** 2015;2015:362542.

LU, X; MA, O; NGUYEN, T.A; JONES, S.N; OREN, M; DONEHOWER, L.A. The Wip1 Phosphatase acts as a gatekeeper in the p53-Mdm2 autoregulatory loop. **Cancer Cell.** 2007 Oct;12(4):342-54.

MA, L; CHEN, Y; YANG, C; JIANG, H; ZHU, J; CHENG, Y. Association of UGT1A1 (*28, *60 and *93) polymorphism with the adverse reactions of irinotecan chemotherapy in extensive stage small cell lung cancer. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.** 2015 Jan;37(1):29-32.

MA, X; ZHANG, J; LIU, S; HUANG, Y; CHEN, B; WANG, D. Polymorphisms in the CASP8 gene and the risk of epithelial ovarian cancer. **Gynecol Oncol.** 2011 Sep;122(3):554-9.

MA, L; PERINI, R; MCKNIGHT, W; DICAY, M; KLEIN, A; HOLLENBERG, M.D; WALLACE, J.L. Proteinase-activated receptors 1 and 4 counter-regulate endostatin and VEGF release from human platelets. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2005 Jan 4;102(1):216-20.

MALIK, MA; ZARGAR, S.A; MITTAL, B. A six-nucleotide deletion polymorphism in the casp8 promoter is associated with reduced risk of esophageal and gastric cancers in Kashmir valley. **Indian J Hum Genet.** 2011 Sep;17(3):152-6.

MALIK, M.A; SHARMA, K; GOEL, S; ZARGAR, S.A; MITTAL, B. Association of TP53 intron 3, 16 bp duplication polymorphism with esophageal and gastric cancer susceptibility in Kashmir Valley. **Oncol Res.** 2011;19(3-4):165-9.

MANTA, F.S; PEREIRA, R; CAIAFA, A; SILVA, D.A; GUSMÃO, L; CARVALHO, E.F. Analysis of genetic ancestry in the admixed Brazilian population from Rio de Janeiro using 46 autosomal ancestry-informative indel markers. **Ann Hum Biol.** 2013 Jan;40(1):94-8.

MERCER UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE. Pathology Pulmonary, 2015. Disponível em: <<http://library.med.utah.edu/webpath/LUNGHTML/LUNGIDX.html>> Acesso em: 17 de junho de 2014.

MICHELS, M. **Frequência de variantes alélicas de genes ligados ao sistema imunológico em uma população de indivíduos normais de origem japonesa no Rio Grande do Sul.** 2003. 103f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

MILARA, J; CORTIJO, J. Tobacco, inflammation, and respiratory tract cancer. **Curr Pharm Des.** 2012;18(26):3901-38.

MOCELLIN, S; VERDI, D; POOLEY, K.A; NITTI, D. Genetic variation and gastric cancer risk: a field synopsis and meta-analysis. **Gut.** 2015 Aug;64(8):1209-19.

MOHD SUZAIRI, M.S; TAN, S.C; AHMAD AIZAT, A.A; MOHD AMINUDIN, M; SITI NURFATIMAH, M.S; ANDEE Z.D; ANKATHIL, R. The functional -94 insertion/deletion ATTG polymorphism in the promoter region of NFKB1 gene increases the risk of sporadic colorectal cancer. **Cancer Epidemiol.** 2013 Oct;37(5):634-8.

MOMAND, J; ZAMBETTI, G.P. Mdm-2: "big brother" of p53. **J Cell Biochem.** 1997 Mar 1;64(3):343-52.

MORIYA, H; SAITO, K; HELSBY, N; SUGINO, S; YAMAKAGE, M; SAWAGUCHI, T; TAKASAKI, M; KATO, H; KUROSAWA, N. Association between the low-dose irinotecan regimen-induced occurrence of grade 4 neutropenia and genetic variants of UGT1A1 in patients with gynecological cancers. **Oncol Lett.** 2014 Jun;7(6):2035-2040.

MORITA, M; LE MARCHAND, L; KONO, S; YIN, G; TOYOMURA, K; NAGANO, J; MIZOUE, T; MIBU, R; TANAKA, M; KAKEJI, Y; MAEHARA, Y; OKAMURA, T; IKEJIRI, K; FUTAMI, K; MAEKAWA, T; YASUNAMI, Y; TAKENAKA, K; ICHIMIYA, H; IMAIZUMI, N. Genetic polymorphisms of CYP2E1 and risk of colorectal cancer: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 2009 Jan;18(1):235-41.

MULLANEY, J.M; MILLS, R.E; PITTARD, W.S; DEVINE, S.E. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. **Hum Mol Genet.** 2010 Oct 15;19(R2):R131-6.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. Acesso em: 17 de março de 2015.

NYUNOYA, T; MEBRATU, Y; CONTRERAS, A; DELGADO, M; CHAND, H.S; TESFAIGZI, Y. Molecular processes that drive cigarette smoke-induced epithelial cell fate of the lung. **Am J Respir Cell Mol Biol.** 2014 Mar;50(3):471-82.

OLAUSSEN, K.A; PLANCHARD, D; ADAM, J; SORIA, J.C. DNA repair pathways and non-small cell lung cancer: clinical perspectives. **Bull Cancer.** 2011 Mar;98(3):305-22. doi: 10.1684/bdc.2011.1327.

OLSON, S.H; ORLOW, I; BAYUGA, S; SIMA, C; BANDERA, E.V; PULICK, K; FAULKNER, S; TOMMASI, D; EGAN, D; ROY, P; WILCOX, H; ASYA, A; MODICA, I; ASAD, H; SOSLOW, R; ZAUBER, A.G. Variants in hormone biosynthesis genes and risk of endometrial cancer. **Cancer Causes Control.** 2008 Nov;19(9):955-63.

PALLAVI, S; ANOOP, K; SHOWKET, H; ALO, N; MAUSUMI, B. NFKB1/NFKB1a polymorphisms are associated with the progression of cervical carcinoma in HPV-infected postmenopausal women from rural area. **Tumour Biol.** 2015 Mar 14.

PARDINI, B; VERDERIO, P; PIZZAMIGLIO, S; NICI, C; MAIORANA, M.V; NACCARATI, A; VODICKOVA, L; VYMETALKOVA, V; VENERONI, S; DAIDONE, M.G; RAVAGNANI, F; BIANCHI, T; BUJANDA, L; CARRACEDO, A; CASTELLS, A; RUIZ-PONTE, C; MORREAU, H; HOWARTH, K; JONES, A; CASTELLVÍ-BEL, S; LI, L; TOMLINSON, I; VAN, W.T; VODICKA, P; RADICE, P; PETERLONGO, P.

Association between CASP8 -652 6N del polymorphism (rs3834129) and colorectal cancer risk: results from a multi-centric study. **PLoS One**. 2014 Jan 21;9(1):e85538. doi: 10.1371/journal.pone.0085538. e Collection 2014.

PATEL, S; CHIPLUNKAR, S. Role of cyclooxygenase-2 in tumor progression and immune regulation in lung cancer. **Indian J Biochem Biophys**. 2007 Dec;44(6):419-28.

PENA, S.D; DI PIETRO, G; FUCHSHUBER, M.M; GENRO, J.P; HUTZ, M.H; KEHDY, F.S; KOHLRAUSCH, F; MAGNO, L.A; MONTENEGRO, R.C; MORAES, M.O; DE MORAES M.E; DE MORAES, M.R; OJOPI, E.B; PERINI, J.A; RACCIOPI, C; RIBEIRO A.K.S; RIOS, F.S; ROMANO, M.A.S; SORTICA, V.A; SUAREZ-KURTZ, G. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One**. 2011 Feb 16;6(2):e17063.

PERLIKOS, F; HARRINGTON, K.J; SYRIGOS, K.N. Key molecular mechanisms in lung cancer invasion and metastasis: a comprehensive review. **Crit Rev Oncol Hematol**. 2013 Jul;87(1):1-11.

PRITCHARD, J.K; STEPHENS, M; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**. 2000 Jun;155(2):945-59.

QIAO, Q; HU, W. A associação entre TP53 Arg72Pro susceptibilidade polimorfismo e câncer de pulmão: evidência de 30.038 indivíduos. **Pulmão**. 2013 agosto; 191 (4): 369-77.

ROBBINS & COTRAN. **Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 8ª Ed. São Paulo: ELSEVIER, 2010.

ROSAS, M.S; SILVA, B.N.M; PINTO, R.G.M.P; SILVA, B.V; SILVA, R.A; GUERRA, L.R; SOARES, G.C.M.T; CASTRO, H.C; LIONE, V.O.F. Incidência do câncer no Brasil e o potencial dos derivados de isatinas na cancerologia experimental. **Rev. Virtual Quim.**, 2013, 5(2), 243-265.

SAGNE, C; MARCEL, V; AMADOU, A; HAINAUT, P; OLIVIER, M; HALL, J. A meta-analysis of cancer risk associated with the TP53 intron 3 duplication polymorphism (rs17878362): geographic and tumor-specific effects. **Cell Death Dis**. 2013 Feb 14;4:e492.

SAHIN, M; SAHIN, E; GÜMÜSLÜ, S. Cyclooxygenase-2 in cancer and angiogenesis. **Angiology**. 2009 Apr-May;60(2):242-53.

SAITO, K; MORIYA, H; HELSBY, N; SUGINO, S; YAMAKAGE, M; SAWAGUCHI, T; TAKASAKI, M; KATO, H; KUROSAWA, N. Associação entre a baixa dose de irinotecano ocorrência induzida pelo regime de neutropenia de grau 4 e variantes genéticas de UGT1A1 em pacientes com cânceres ginecológicos. **Oncol Lett**. 2014 Jun; 7 (6): 2035-2040.

SALZANO, F.M. Permanence or change? The meaning of genetic variation. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2000 May 9;97(10):5317-21.

SALIMI, S; HAJIZADEH, A; KHODAMIAN, M; PEJMAN, A; FAZELI, K; YAGHMAEI, M. Age-dependent association of MDM2 promoter polymorphisms and uterine leiomyoma in South-East Iran: A preliminary report. **J Obstet Gynaecol Res.** 2015 May;41(5):729-34.

SANTOS, N.P; RIBEIRO-RODRIGUES, E.M; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K; PEREIRA, R; GUSMÃO L; AMORIM, A; GUERREIRO, J.F; ZAGO, M.A; MATTE, C; HUTZ M.H; SANTOS, S.E. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry informative marker (AIM) panel. **Hum Mutat.** 2009, 31:184-190.

SCHAAL, C; CHELLAPPAN, S.P. Nicotine-mediated cell proliferation and tumor progression in smoking-related cancers. **Mol Cancer Res.** 2014 Jan;(1):14-23.

SHEN, R; LIU, H; WEN, J; LIU, Z; WANG, L.E; WANG, Q; TAN, D; AJANI, J.A; WEI, Q. Genetic polymorphisms in the microRNA binding-sites of the thymidylate synthase gene predict risk and survival in gastric cancer. **Mol Carcinog.** 2014 Apr 23

SHEPHERD, F; CROWLEY, J; VAN HOUTTE, P. et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals Regarding the Clinical Staging of Small Cell Lung Cancer in the Forthcoming (Seventh) Edition of the Tumor, Node, Metastasis Classification for Lung Cancer on behalf of the International Association for the Study Lung Cancer International Staging Committee and Participating Institutions. **J of Thoracic Oncol.** 2007;2:1067-77.

SHIELS, M.S; ENGELS, E.A; SHI, J; LANDI, M.T; ALBANES, D; CHATTERJEE, N; CHANOCK, S.J; CAPORASO; N.E; CHATURVEDI, A.K. Genetic variation in innate immunity and inflammation pathways associated with lung cancer risk. **Cancer.** 2012 Nov 15;118(22):5630-6.

SAGNE, C; MARCEL, V; BOTA, M; MARTEL-PLANCHE, G; NOBREGA, A; PALMERO, E.I; PERRIAUD, L; BONIOL, M; VAGNER, S; COX, D.G; CHAN, C.S; MERGNY, J.L; OLIVIER, M; ASHTON-PROLLA, P; HALL, J; HAINAUT, P; ACHATZ, M.I. Age at cancer onset in germline TP53 mutation carriers: association with polymorphisms in predicted G-quadruplex structures. **Carcinogenesis.** 2014 Apr;35(4):807-15.

SINGH, C.R; KATHIRESAN, K. Molecular understanding of lung cancers-A review. **Asian Pac J Trop Biomed.** 2014. May;4(Suppl1):S35-41.

SLATTERY, M.L; HERRICK, J.S; TORRES-MEJIA, G; JOHN, E.M; GIULIANO, A.R; HINES, L.M; STERN, M.C; BAUMGARTNER, K.B; PRESSON, A.P; WOLFF, R.K. Genetic variants in interleukin genes are associated with breast cancer risk and survival in a genetically admixed population: the Breast Cancer Health Disparities Study. **Carcinogenesis.** 2014 Aug;35(8):1750-9.

SNUSTAD, D.P; SIMMONS, M.J. **Fundamentos da Genética.** 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SON, J.W; KANG, H.K; CHAE, M.H; CHOI, J.E; PARQUE, J.M; LEE, W.K; KIM, C.H; KIM, D.S; KAM, S; KANG, Y.M; PARQUE, J.Y. Polimorfismos no gene caspase-8 e do risco de câncer de pulmão. **Câncer Genet Cytogenet**. 2006 setembro; 169 (2): 121-7.

STAHEL, R; GINSBERG, R; HAVEMANN, K. Staging and prognostic factors in small cell lung câncer: a consensus report. **Lung Cancer**. 1989;5:119-26.

STRACHAN, T; READ, A. **Genética Molecular Humana**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenomics and the genetic diversity of the Brazilian population. **Cad Saúde Pública**. 2009 Aug;25(8):1650-1.

SUEHIRO, Y; FURUYA, T; SASAKI, K; HINOTA, Y. DNA polymorphisms. **Rinsho Byori**. 2013 Nov;61(11):1001-7.

SUZAIRI, M.S; TAN, S.C; AHMAD, AIZAT, A.A; AMINUDIN, M; NURFATIMAH, M.S; ANDEE, Z.D; ANKATHIL, R. The functional -94 insertion/deletion ATTG polymorphism in the promoter region of NFKB1 gene increases the risk of sporadic colorectal cancer. **Cancer Epidemiol**. 2013 Oct;37(5):634-8.

THUROW, H.S. **Epidemiologia genômica: estudos de polimorfismos nos genes da p53 e MDM2 associados a fatores de risco para câncer**. 2011. 81f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

TODARO, M; PEREZ, A,M; SCOPELLITI, A; MEDEMA, J.P; STASSI, G. IL-4-mediated drug resistance in colon cancer stem cells. **Cell Cycle**. 2008 Feb 1;7(3):309-13.

TSAI, F.J; CHANG, C.H; CHEN, C.C; HSIA, T.C; CHEN, H.Y; CHEN, W.C. Interleukin-4 gene intron-3 polymorphism is associated with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **BJU Int**. 2005 Feb;95(3):432-5.

UEHARA, C. JAMNIK, S & SANTORO, I.L. Câncer de Pulmão. **Medicina**, Ribeirão Preto, 31: 266-276, abr./jun.1998.

VALAVANIDIS, A; VLACHOGIANNI, T; FIOTAKIS, K; LORIDAS, S. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. **Int J Environ Res Public Health**. 2013 Aug 27;10(9):3886-907.

VARGAS, D.A; TAKAHASHI, S; RONAI, Z. Mdm2: A regulator of cell growth and death. **Adv Cancer Res**. 2003;89:1-34.

VERMA, M.K; MIKI, Y; SASANO, H. A aromatase em carcinoma de pulmão humano. **Esteróides**. 2011 julho; 76 (8): 759-64.

VESELY, M.D; KERSHAW, M.H; SCHREIBER, R.D; SMYTH, M.J. Natural innate and

adaptive immunity to cancer. **Annu Rev Immunol.** 2011;29:235-71.

VIEIRA, P.C.M. **Investigação de polimorfismos nos genes XRCC1, MTHFR e EGFR como possíveis marcadores de suscetibilidade ao câncer, na população de Belém-PA.** 2013. 75f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

WANG, M; ZHANG, Z; TIAN, Y; SHAO, J; ZHANG, Z. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter associated with risk and progression of bladder cancer. **Clin Cancer Res.** 2009 Apr 1;15(7):2567-72.

WANG, H; LIU, Z. Polymorphism of DNA repair gene XRCC1 and lung cancer risk. **Cell Biochem Biophys.** 2014 Jul 20.

WANG, B.S; LIU, Z; XU, W.X; SUN, S.L. Functional polymorphisms in microRNAs and susceptibility to liver cancer: a meta-analysis and meta-regression. **Genet Mol Res.** 2014 Jul 24;13(3):5426-40.

WANG, X; PENG, H; LIANG, Y; SUN, R; WEI, T; LI, Z; GONG, Y; GONG, R; LIU, F; ZHANG, L; ZHU, J. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the NFKB1 gene increases the risk of papillary thyroid carcinoma. **Genet Test Mol Biomarkers.** 2015 Mar;19(3):167-71.

WEINBERG, R.A. **A Biologia do Câncer.** Porto Alegre: Artmed, 2008.

WILKENING, S; BERMEJO, J.L; HEMMINKI, K. MDM2 SNP309 and cancer risk: a combined analysis. **Carcinogenesis.** 2007 Nov;28(11):2262-7.

XU, L; YANG, H; ZHAO, T; JIN, H; XU, Z; LI, H; CHEN, H . O polimorfismo de CYP2E1 Rsa I / Pst I gene e a suscetibilidade ao câncer do sistema respiratório: uma revisão sistemática e meta-análise de 34 estudos. **Medicine (Baltimore).** 2014 Dec; 93 (27): e178.

YANG, C.M; CHEN, H.C; HOU, Y.Y; LEE, M.C; LIOU, H.H; HUANG, S.J; YEN, L.M; ENG, D.M; HSIEH, Y.D; GER, L.P. A high IL-4 production diplotype is associated with an increased risk but better prognosis of oral and pharyngeal carcinomas. **Arch Oral Biol.** 2014 Jan;59(1):35-46

YANG, X; LI, P; TAO, J; QIN, C; CAO, Q; GU, J; DENG, X; WANG, J; LIU, X; WANG, Z; WU, B; GU, M; LU, Q; YIN, C. Association between NFKB1 -94ins/del ATTG Promoter Polymorphism and Cancer Susceptibility: An Updated Meta-Analysis. **Int J Genomics.** 2014;2014:612972.

YANG, Z.H; DAI, Q; ZHONG, L; ZHANG, X; GUO, Q.X; LI, S.N. Association of IL-1 polymorphisms and IL-1 serum levels with susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. **Mol Carcinog.** 2011 Mar;50(3):208-14.

YANNOPOULOS, A; NIKITEAS, N; CHATZITHEOFYLAKTOU, A; TSIGRIS, C. The (-590 C/T) polymorphism in the interleukin-4 gene is associated with increased risk for early stages of colorectal adenocarcinoma. **In Vivo.** 2007 Nov-Dec;21(6):1031-5.

YE, X.H; SONG, L; PENG, L; BU, Z; YAN, S.X; FENG, J; ZHU, X.L; LIAO, X.B; YU, X.L; YAN, D. Associação entre os polimorfismos CYP2E1 e risco de câncer de pulmão: a meta-análise. **Mol Genet Genomics**. 2015 Apr; 290 (2): 545-58.

YOSHIDA, K; SANADA, M; OGAWA, S. Deep sequencing in cancer research. **Jpn J Clin Oncol**. 2013 Feb;43(2):110-5.

YOSHIOKA, K; ATSUMI, Y; NAKAGAMA, H; TERAOKA, H. Development of cancer-initiating cells and immortalized cells with genomic instability. **World J Stem Cells**. 2015 Mar 26;7(2):483-9.

YUN, F; LULU, M; ZHIYU, H; LEI, G; HAIFENG, Y; TAO, L; HAIYAN, Y; CONGHUA, X. Uridine diphosphate glucuronide transferase 1A1FNx0128 gene polymorphism and the toxicity of irinotecan in recurrent and refractory small cell lung cancer. **J Cancer Res Ther**. 2014 Nov;10 Suppl:C195-200.

ZHAO, L; ZHAO, X; WU, X; TANG, W. Associação do polimorfismo do Arg72Pro p53 com câncer de esôfago: a meta-análise com base em 14 estudos de caso-controle. **Genet teste Mol Biomarkers**. 2013 outubro; 17 (10): 721-6.

ZHANG, P; WEI, Q; LI, X; WANG, K; ZENG, H; BU, H; LI, H. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the NFKB1 gene increases susceptibility for prostate cancer. **Cancer Genet Cytogenet**. 2009 Jun;191(2):73-77.

ZHANG, Y.J; ZHONG, X.P; CHEN, Y; LIU, S.R; WU, G; LIU, Y.F. Association between CASP-8 gene polymorphisms and cancer risk in some Asian population based on a HuGE review and meta-analysis. **Genet Mol Res**. 2013 Feb 28;12(4):6466-76.

ZHANG, Z.Y; XUAN, Y; JIN, X.Y; TIAN, X; WU, R. A literature-based systematic HuGE review and meta-analysis show that CASP gene family polymorphisms are associated with risk of lung cancer. **Genet Mol Res**. 2013 Jan 4;12(3):3057-69.

ZHANG, J.W; YU, W.J; SHENG, X.M; CHANG, F.H; BAI, T.Y; LV, X.L; WANG, G; LIU, S.Z. Association of CYP2E1 and NAT2 polymorphisms with lung cancer susceptibility among Mongolian and Han populations in the Inner Mongolian region. **Asian Pac J Cancer Prev**. 2014;15(21):9203-10.

ZHANG, Z; ZHOU, B; GAO, Q; WU, Y; ZHANG, K; PU, Y; SONG, Y; ZHANG, L; XI, M. A polymorphism at miRNA-122-binding site in the IL-1 α 3'UTR is associated with risk of epithelial ovarian cancer. **Fam Cancer**. 2014 Dec;13(4):595-601.

ZHANG, Y; STURGIS, E.M; SUN, Y; SUN, C; WEI, Q; HUANG, Z, LI, G. A functional variant at miRNA-122 binding site in IL-1 α 3' UTR predicts risk and HPV-positive tumours of oropharyngeal cancer. **Eur J Cancer**. 2015 Jul;51(11):1415-23

ZENG, X.F; LI, J; LI, S.B. A functional polymorphism in IL-1A gene is associated with a reduced risk of gastric cancer. **Tumour Biol**. 2014 Jan;35(1):265-8.

ANEXO