

MARCOS EUZÉBIO MACIEL

**GENES DO BIOMETABOLISMO: ASPECTOS POPULACIONAIS EM EURO-
DESCENDENTES E AFRO-DESCENDENTES DO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada como
requisito parcial à obtenção do grau de
Mestre em Genética, Curso de Pós-
Graduação em Genética, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Enilze Maria de
Souza Fonseca Ribeiro

Co-orientador: Prof. Dr. Iglenir João
Cavalli

**CURITIBA
2007**

MARCOS EUZÉBIO MACIEL

**GENES DO BIOMETABOLISMO: ASPECTOS POPULACIONAIS EM EURO-
DESCENDENTES E AFRO-DESCENDENTES DO SUL DO BRASIL**

**Dissertação apresentada como
requisito parcial à obtenção do grau de
Mestre em Genética, Curso de Pós-
Graduação em Genética, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.**

**Orientadora: Prof.^a Dr.^a Enilze Maria de
Souza Fonseca Ribeiro**

**Co-orientador: Prof.^o Dr. Iglenir João
Cavalli**

**CURITIBA
2007**

Dedico este trabalho ao Prof. Elias Karam Júnior,
por ter me apresentado de maneira maravilhosa a
Genética de Populações, e por ter sido um grande amigo e
referência de perseverança, caráter e dedicação.

AGRADECIMENTOS

“À minha orientadora Prof^a Dr^a Enilze M. S. F. Ribeiro e ao meu co-orientador Prof. Dr. Iglénir João Cavalli que brilhantemente me auxiliaram durante a elaboração desta Dissertação bem como durante todo o período que tive o privilégio de permanecer no Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética, sendo referências de moral e ética científica em minha vida acadêmica.”

“À Prof^a Dr^a Maria da Graça Bicalho e sua equipe, que cederam as amostras analisadas neste trabalho do Banco de Doadores de Medula Óssea.”

“Ao Prof. Dr. Ricardo Lehtonen Rodriguez de Souza e à Prof.^a Dr^a Iliada Rainha de Souza, por terem aceitado fazer parte da Banca Avaliadora desta Dissertação.”

“À Prof^a Dr^a Eleidi Alice Chautard Freire-Maia, por ter feito parte da comissão de acompanhamento desta Dissertação.

“Ao meu amigo Marcelo Rizzatti Luizon por ter me auxiliado na compreensão de alguns cálculos estatísticos e por ouvir minhas angústias em relação à Genética de Populações.”

“Aos meus colegas do Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética, Gustavo Bonfim Propst e Fausto Koga Oliveira que participaram da produção deste trabalho e também aos demais colegas que fizeram cada dia de trabalho mais agradável.”

“A todos os meus colegas de Mestrado, especialmente Márcio, Jociney, Kelly e Liziane, por serem simplesmente, incríveis.”

“Aos meus pais, que sempre doaram seu incentivo incondicional sendo uma referência segura de caráter, moral e determinação em minha vida.”

“A todas as pessoas que de alguma forma me auxiliaram e, principalmente, à Deus, porque para todo pesquisador é importante ter dúvidas, mas também é importante ter fé...”

“O jovem que deseja ser cientista
e à ciência dedicar todo seu tempo e amor tem,
pelo menos, três certezas:
a de que morrerá um dia (como todo mundo),
a de que não ficará rico (como quase todo mundo)
e a de que se divertirá muito (como pouca gente).”

Prof. Dr. Newton Freire-Maia

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
RESUMO	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 POPULAÇÃO EUROPÉIA NO BRASIL.....	3
1.2 POPULAÇÃO AFRICANA NO BRASIL.....	6
1.3 POPULAÇÃO PARANAENSE E CURITIBANA.....	9
1.4 GENES DO BIOMETABOLISMO.....	12
1.4.1 Família Citocromo P450 (CYP).....	13
1.4.2 Família Glutathione S-transferase (GST).....	17
1.5 ETNICIDADE, EPIDEMIOLOGIA E OS GENES DO BIOMETABOLISMO.....	21
1.5.1 Etnicidade e Epidemiologia Relacionada à Família CYP.....	22
1.5.1.1 <i>CYP1A1</i>	22
1.5.1.2 <i>CYP2D6</i>	36
1.5.1.3 <i>CYP2E1</i>	30
1.5.2 Etnicidade e Epidemiologia Relacionada à Família GST.....	32
1.5.2.1 <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>	33
1.5.2.2 <i>GSTP1</i>	37
2 JUSTIFICATIVA	41
3 OBJETIVOS	42
3.1 OBJETIVO GERAL	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	43
4.2 PROCEDIMENTOS.....	43
4.2.1 Coleta de Sangue Periférico e Extração de DNA Genômico.....	43
4.2.2 Amplificação por PCR Alelo-específico e PCR-RFLP.....	44
4.2.2.1 Análise do Gene <i>CYP1A1</i> para Variante *2A por PCR-RFLP.....	44
4.2.2.2 Análise do Gene <i>CYP2D6</i> para Variante *4 por PCR-RFLP.....	46
4.2.2.3 Análise do Gene <i>CYP2E1</i> para Variante *5B por PCR-RFLP.....	48
4.2.2.4 Análise dos Genes <i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i> para Variantes *0 por PCR Multiplex.....	50
4.2.2.5 Análise do Gene <i>GSTP1</i> para Variante *B por PCR-RFLP.....	51
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	55
4.3.1 Frequências Alélicas e Genotípicas.....	55

4.3.2	Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	55
4.3.3	Diferenciação Genética.....	56
4.3.4	Diversidade Genética.....	56
4.3.5	Contribuição Genética.....	56
5	RESULTADOS.....	57
5.1	FREQÜÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS.....	57
5.2	EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	62
5.3	DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA.....	64
5.4	DIVERSIDADE GENÉTICA.....	66
5.5	COMPARAÇÕES COM OS DADOS DA LITERATURA.....	67
5.6	CONTRIBUIÇÃO GENÉTICA.....	70
6	DISCUSSÃO.....	71
7	CONCLUSÕES.....	81
	REFERÊNCIAS.....	83
	APÊNDICES.....	100
	ANEXO.....	112

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	–	QUADRO GERAL DAS MIGRAÇÕES PARA O BRASIL NOS SÉCULOS XIX E XX.....	5
TABELA 2	–	NOMENCLATURA DE ALELO E PROTEÍNA RELACIONADA, ENZIMA DE RESTRIÇÃO PARA DETECÇÃO DO ALELO E NOME COMUM DOS GENES <i>CYP1A1</i> , <i>CYP2E1</i> E <i>CYP2D6</i>	17
TABELA 3	–	INICIADORES E CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO.....	54
TABELA 4	–	RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS ENTRE OS SEXOS.....	58
TABELA 5	–	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E DAS VARIANTES ESTUDADAS PARA OS GENES DO BIOMETABOLISMO.....	59
TABELA 6	–	RESULTADO DO TESTE DO χ^2 PARA ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HW POR AMOSTRA.....	62
TABELA 7	–	RESULTADO DO TESTE DO χ^2 PARA ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HW ATRAVÉS DO MÉTODO DE FISHER.....	63
TABELA 8	–	RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE PARA A DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA DAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS.....	64
TABELA 9	–	DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA (H_s) ENTRE AS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS.....	65
TABELA 10	–	RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DESCRITAS NA LITERATURA PARA POPULAÇÕES NÃO BRASILEIRAS E DAS DO PRESENTE ESTUDO.....	68
TABELA 11	–	RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DESCRITAS NA LITERATURA PARA POPULAÇÕES BRASILEIRAS E DAS DO PRESENTE ESTUDO.....	69
TABELA 12	–	CONTRIBUIÇÃO GENÉTICA AVALIADA NAS AMOSTRAS ESTUDADAS.....	70

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	–	PRINCIPAIS ROTAS E PORTOS DE TRANSPORTE DE ESCRAVOS AFRICANOS PARA O BRASIL.....	8
FIGURA 2	–	LOCALIZAÇÃO DE GENES DA FAMÍLIA GST CLASSE MU E DELEÇÃO COMPLETA DO GENE <i>GSTM1</i>	18
FIGURA 3	–	DELEÇÃO COMPLETA DO GENE <i>GSTT1</i>	19
FIGURA 4	–	PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE <i>CYP1A1</i> EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO.....	46
FIGURA 5	–	PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE <i>CYP2D6</i> EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO.....	48
FIGURA 6	–	PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE <i>CYP2E1</i> EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO.....	49
FIGURA 7	–	PADRÃO DE BANDAS PARA OS GENES <i>GSTM1</i> E <i>GSTT1</i> EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO.....	51
FIGURA 8	–	PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE <i>GSTP1</i> EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO.....	53
GRÁFICO 1	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DAS VARIANTES ESTUDADAS NAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS.....	60
GRÁFICO 2	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-DESCENDENTES.....	61

RESUMO

Os brasileiros formam uma das populações mais heterogêneas do mundo, resultado de cinco séculos de cruzamentos entre indivíduos de três continentes: os colonizadores Europeus, principalmente representados pelos portugueses, os escravos Africanos e os Ameríndios. A etnicidade de uma população é uma construção complexa que inclui vários fatores que podem influenciar na saúde dos indivíduos. A variabilidade interindividual no biometabolismo de xenobióticos tem sido associada com a maior ou menor suscetibilidade ao risco de desenvolvimento de neoplasias ou outras doenças complexas e está relacionada diretamente aos diversos grupos étnicos. As principais famílias gênicas que codificam enzimas envolvidas no biometabolismo são as Citocromo P-450 e Glutathione S-transferases, que atuam na ativação (fase I) e detoxificação (fase II) dos xenobióticos, respectivamente. Estes genes têm sido amplamente avaliados em estudos de associação em diversas populações para diferentes neoplasias, entretanto a associação desses genes com a suscetibilidade a essas doenças ainda é controversa e mais estudos são necessários nos diversos grupos étnicos para melhor compreensão da ação das variantes desses genes. Com o objetivo de descrever as frequências de seis genes do biometabolismo (*CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*) e avaliar parâmetros populacionais em duas amostras do Sul do Brasil, constituídas por 115 indivíduos Euro-descendentes e 196 indivíduos Afro-descendentes, respectivamente, o DNA genômico foi extraído do sangue periférico através do método *salting out*. Os indivíduos foram tipados para as variantes dos genes através de PCR-RFLP e PCR-*multiplex* seguidas de eletroforese em gel de agarose, corado com brometo de etídio e visualizado em luz UV. As frequências alélicas encontradas para as variantes estudadas na amostra de Euro-descendentes foram: 15,2% de *CYP1A1**2A; 21,5% de *CYP2D6**4; 5% de *CYP2E1**5B; 46,1% de *GSTM1**0; 17,4% de *GSTT1**0 e 28,3% de *GSTP1**B. Para a amostra de Afro-descendentes foram: 30,1% de *CYP1A1**2A; 14,5% de *CYP2D6**4; 7,9% de *CYP2E1**5B; 36,8% de *GSTM1**0; 24,2% de *GSTT1**0 e 37,8% de *GSTP1**B. A distribuição das frequências apresentou-se de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2_{12}=17,85$; $p>0,20$) e as amostras apresentaram diferenciação genética estatisticamente significativa entre as frequências alélicas ($\chi^2_{11}=111,49$; $p<0,01$) e genotípicas ($\chi^2_{17}=52,07$; $p<0,01$). A contribuição genética das populações européia, africana e ameríndia parentais foi estimada para a amostra de Euro-descendentes apresentando 75% de Europeus, 17% de Africanos e 8% de Ameríndios; e para a amostra de Afro-descendentes a contribuição de Europeus foi 40%, de Africanos 39% e de Ameríndios 21%. Essa contribuição foi semelhante às descritas para a população paranaense em outros trabalhos com outros marcadores, exceto para a contribuição Ameríndia na amostra de Afro-descendentes que foi mais elevada, indicando a necessidade de se avaliar essa amostra com marcadores que discriminem melhor esses componentes na população brasileira. Com relação aos estudos de associação em populações miscigenadas como a brasileira, ressaltamos dois aspectos importantes. Primeiro, fazer um pareamento entre pacientes e controles criterioso a fim de não introduzir associações espúrias, como resultado de estratificação populacional nas amostras. Segundo, delinear bem os trabalhos principalmente com relação ao tamanho amostral, avaliando previamente as frequências das variantes a serem estudadas nas populações.

1 INTRODUÇÃO

Os brasileiros formam uma das populações mais heterogêneas do mundo, resultado de cinco séculos de cruzamentos entre indivíduos de três continentes: os colonizadores Europeus, principalmente representados pelos portugueses, os escravos Africanos e os Ameríndios (PARRA et al., 2002).

A miscigenação entre portugueses e Ameríndios começou com a chegada dos primeiros colonizadores. Os casamentos entre os homens Europeus e mulheres indígenas foram encorajados como uma estratégia para crescimento da população e ocupação colonial do país. As tribos de Ameríndios sofreram um declínio demográfico drástico devido aos conflitos com os colonizadores Europeus e doenças para as quais eles não estavam adaptados (SALZANO e FREIRE-MAIA, 1967).

Os Africanos foram introduzidos no começo do século XVI, trazidos para o Brasil como escravos para trabalhar inicialmente no cultivo de cana-de-açúcar, depois na exploração do ouro e diamantes e, por fim, em cafezais (ALVES-SILVA et al., 2000).

Com relação à imigração Européia, calcula-se que 500.000 portugueses chegaram ao país entre 1500 e 1808 (SALZANO e FREIRE-MAIA, 1967). Com a abertura dos portos brasileiros às nações amigas, o Brasil recebeu números crescentes de imigrantes de várias partes do mundo. Portugal permaneceu a fonte mais importante de migrantes, seguido pela Itália, Espanha e Alemanha.

No século XX iniciou-se a imigração Asiática, principalmente do Japão, como também do Líbano e Síria. De acordo com CALLEGARI-JACQUES e SALZANO (1999), 58% dos imigrantes que chegaram ao Brasil entre 1500 e 1972 eram Europeus, 40% eram Africanos e 2% eram Asiáticos.

Foram realizados vários estudos durante as últimas décadas, na tentativa de caracterizar a ancestralidade genética da população brasileira não-Ameríndia (SALZANO, 1997; CALLEGARI-JACQUES e SALZANO, 1999; DORNELLES et al., 1999; GUERREIRO et al., 1999). Estes estudos incluíram amostras principalmente das regiões Norte e Sul do país. Com base em marcadores genéticos clássicos estes estudos demonstraram que todos os grupos analisados continham algum grau de miscigenação, que variou dependendo da região analisada.

A contribuição da população Africana para as populações atuais brasileiras é encontrada em vários aspectos como a cultura, a religião e a origem genética das populações atuais. Com relação à origem genética, o componente Africano miscigenado a outros componentes como o Europeu e Ameríndio, é um dos mais marcantes. KRIEGER et al. (1965) estudaram a população residente em São Paulo, com origem no Nordeste, através de grupos sanguíneos e marcadores protéicos, e demonstraram que os indivíduos classificados como brancos apresentavam contribuição genética de 18% Africana, 12% Ameríndia e que os indivíduos classificados como negros apresentavam uma contribuição de 28% Européia e 5% Ameríndia.

No Nordeste, SALZANO (1997) calculou uma ancestralidade 51% Européia, 36% Africana e 13% Ameríndia, enquanto que no Norte, SANTOS e GUERREIRO, (1995) obtiveram descendência 47% Européia, 12% Africana e 41% Ameríndia. No Sul, no estado do Rio Grande do Sul, DORNELES et al. (1999) calcularam uma ancestralidade 82% Européia, 7% Africana e 11% Ameríndia.

Recentemente, foram analisados o DNA mitocondrial (mtDNA) (BORTOLINI e SALZANO, 1996; SANTOS et al., 1996; WARD et al., 1996; BORTOLINI et al., 1997; BATISTA DOS SANTOS et al., 1999; ALVES-SILVA et al., 2000) e polimorfismos do cromossomo Y (BATISTA DOS SANTOS et al., 1999; CARVALHO-SILVA et al., 2001, FERREIRA et al., 2006) de algumas amostras da população brasileira. Os estudos em mtDNA mostraram que as contribuições Ameríndias e Africanas em brasileiros do Norte são maiores do que demonstravam os estudos com os marcadores clássicos (BATISTA DOS SANTOS et al., 1999; SANTOS et al., 1999). Os estudos com marcadores do cromossomo Y mostraram uma grande contribuição Européia nos grupos de população brasileira, principalmente no Sul do país, corroborando os relatos históricos de uma grande frequência de casamentos entre portugueses e Ameríndias e Africanas (FERREIRA et al., 2006)

Em um estudo com amostras de população de quatro grandes regiões do Brasil (Norte, Nordeste, Sudeste e Sul), PARRA et al. (2002) verificaram, através de comparação genômica em um painel de alelos população-específico, que a população brasileira, como um todo, é extremamente miscigenada. Em diferentes regiões geográficas, estimativas da contribuição Africana na população urbana variam de 4 a 34%, enquanto a Ameríndia de 0 a 27%. Os resultados demonstraram

que as frequências alélicas das amostras foram intermediárias às frequências de Europeus e Africanos. Sendo assim, na população brasileira, não se pode inferir a ancestralidade genética individual simplesmente baseando-se em características físicas, como a cor da pele.

1.1 POPULAÇÃO EUROPÉIA NO BRASIL

Os Ameríndios originalmente povoaram a América do Sul no período Pleistoceno. Séculos depois, os portugueses chegaram ao Brasil, encontrando aproximadamente 2,4 milhões de Ameríndios (IBGE, 2000). A colonização inicialmente envolveu apenas homens, pois a imigração Européia de mulheres nos primeiros séculos foi insignificante. Portanto, desde o início da colonização portuguesa houve miscigenação entre homens portugueses e mulheres Ameríndias. Durante o período de 1500 a 1808 aproximadamente 500.000 portugueses vieram para o Brasil (CARVALHO-SILVA et al., 2001).

Contudo, houve a presença de outros grupos Europeus no Brasil antes de 1808. Inúmeras tentativas de colonização estrangeira ocorreram durante o período de domínio português, como a dos franceses na Guanabara e no Maranhão, dos holandeses no Norte e no Nordeste, dos espanhóis no Sul e de vários grupos (ingleses, holandeses, franceses etc.) no vale amazônico. Individualmente, alguns italianos, alemães, franceses e espanhóis também vieram compor a imigração Européia não portuguesa nesse período. Mas a influência desses elementos na composição étnica do povo brasileiro não deve ter sido grande, no primeiro caso (colonizações) porque após certo tempo foram quase totalmente expulsos; e no segundo caso (contribuição individual) porque seu número foi pequeno (SALZANO e FREIRE-MAIA, 1967).

No ano de 1808 ocorreu a Abertura dos Portos Brasileiros e iniciou-se a imigração Européia não portuguesa mais expressiva. DIEGUÉS (1964) apud SALZANO e FREIRE-MAIA (1967; p. 32) divide esse período em três fases. O primeiro se estende de 1808 (abertura dos portos) a 1850 (extinção do tráfico de escravos Africanos); o segundo, de 1850 a 1888 (abolição da escravatura); o terceiro, de 1888 até a atualidade.

No primeiro período o número de imigrantes foi pequeno se comparado com os períodos que o precederam, aproximadamente 21.599 indivíduos. Neste período os grupos predominantes foram os alemães (Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) e suíços (Rio de Janeiro). No segundo período, devido ao término do tráfico de escravos e às leis do Ventre Livre e dos Sexagenários, a imigração foi incentivada e o número de migrantes aumentou. Entraram no território brasileiro, durante esse período, aproximadamente 882.176 indivíduos. O grupo imigrante principal desse período é de italianos com 33% do total de indivíduos, distribuídos principalmente nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo. Também foram significativos os grupos de alemães (7%) e espanhóis (3%) (SALZANO e FREIRE-MAIA, 1967).

No terceiro período se concentrou o maior número de imigrações que chegou a aproximadamente 1 milhão de migrantes entre os anos de 1889 e 1944. As nacionalidades que mais contribuíram para a composição dessas correntes migratórias foram, em ordem decrescente, a italiana, a espanhola, a japonesa e a alemã (Tabela 1). Os Estados que mais receberam imigrantes foram os da região Sul e São Paulo. Segundo SALZANO e FREIRE-MAIA (1967) a ocorrência de indivíduos com os quatro avós de origem portuguesa oscila entre 70 a 80% em amostras estudadas nas três capitais dos Estados da região Sul. Nas três cidades os componentes italiano e alemão são importantes e em Curitiba ancestrais eslavos também ocorrem em número significativo. Os autores ainda ressaltam que este é um fenômeno restrito ao Sul do Brasil, nas demais regiões os três componentes principais da população são o português, negro e Ameríndio e muitas vezes os indivíduos possuem ancestrais pertencentes aos três grupos.

TABELA 1 – QUADRO GERAL DAS MIGRAÇÕES PARA O BRASIL NOS SÉCULOS XIX E XX

Nacionalidades	Entrada de Imigrantes por Decênio						Total
	1884 1893	1894 1903	1904 1913	1914 1923	1924 1933	1934 1944	
Italianos	510.533	537.784	196.521	86.320	70.177	12.432	1.413.767
Espanhóis	103.116	102.142	224.672	94.779	52.405	6.946	584.060
Japoneses	-	-	11.859	20.398	110.181	46.696 ^j	189.143
Alemães	22.778	6.698	33.859	29.339	61.728	18.937	173.339
Total	883.668	862.110	1.006.617	503.981	737.223	263.383	4.256.982

FONTE: SALZANO e FREIRE-MAIA (1967)

1.2 POPULAÇÃO AFRICANA NO BRASIL

O tráfico de negros Africanos para o Brasil iniciou-se em 1502 e continuou até 1860. Acredita-se que o número aproximado de negros Africanos transportados para as Américas neste período seja de nove milhões e meio, sendo quatro milhões e trezentos mil para o Brasil (VIANA-FILHO, 1988). Nosso país foi o maior importador de escravos Africanos, com 22% do total do tráfico no século XVI, 43% no século XVII e 30% no século XVIII.

Os primeiros escravos Africanos foram trazidos para trabalhar nos engenhos brasileiros basicamente em atividades especializadas. Por esse motivo, eram mais caros que os indígenas: um escravo Africano custava, na segunda metade do século XVI, cerca de três vezes mais que um escravo índio. Após 1560, com a ocorrência de várias epidemias no litoral brasileiro (como sarampo e varíola), os escravos índios passaram a morrer em proporções alarmantes, o que exigia reposição constante da força de trabalho nos engenhos (MARQUESE, 2006).

As potências marítimas do colonialismo, Portugal, Inglaterra, Espanha e Holanda, tinham no tráfico de escravos um negócio importante. No século XVI Portugal deteve o monopólio do tráfico (MATTOSO, 1982). As viagens ocorriam em navios chamados tumbeiros – alusão à semelhança dos navios a túmulos – com capacidade de transportar, em média, 200 a 500 cativos, dos quais 15 a 20% morriam durante a viagem devido a peste, escorbuto, banzo ou suicídio. Os negros eram capturados em várias regiões da África e mantidos em depósitos até a chegada dos navios. O tempo de viagem variava conforme o trajeto e as condições climáticas, podendo se estender até seis meses. Os indivíduos transportados eram do sexo masculino, por terem maior valor de comercialização, sendo as crianças e idosos considerados refugos (FAUSTO, 1997).

Dentre os negros trazidos para o Brasil, dois grupos foram predominantes: os bantus, vindos de Angola, e os sudaneses, de várias regiões sendo as principais, Costa da Mina e do Golfo de Benin. A região que mais recebeu escravos foi a Bahia. O tráfico baiano pode ser classificado em quatro ciclos distintos: ciclo da Guiné-Bissau e Cacheu (séc. XVI); ciclo de Angola e Congo, dos portos de Luanda, Cabinda e Benguela (séc. XVII); ciclo da Costa da Mina e Golfo de Benin (séc. XVIII

até 1815); e o último ciclo de 1816 até 1851, ocorrendo na ilegalidade (Figura 1) (MATTOSO, 1982; VIANA-FILHO, 1988; FAUSTO, 1997).

Segundo MATTOSO (1982), os quatro grandes ciclos trazem para o Brasil os negros sudaneses e, em seguida, os bantus. O ciclo da Guiné (séc. XVI) tem seu ponto inicial na região da África ao norte do Equador, e traz indivíduos dos grupos nolofo, mandingas, sonraio, mossio, haússa e peulo. No ciclo do Congo e Angola (séc. XVII), vêm os bantus da África Equatorial e Central, considerados excelentes agricultores. O ciclo da Costa da Mina trouxe os negros sudaneses (séc. XVIII). A partir da metade desse século inicia-se o ciclo propriamente baiano, o da baía de Benim, que persistiu apesar das proibições da Inglaterra em 1830. Mesmo com o início do próximo ciclo, o de Benim não cessou, pois os portugueses adotaram uma política de mistura das diferentes etnias Africanas. Isto impediu a concentração de negros de uma mesma origem na mesma capitania, dificultando qualquer tipo de organização social, por falarem línguas diferentes, evitando o surgimento de levantes e revoltas (PINSKY, 1981).

O terceiro ciclo, da Costa da Mina, coincidiu com a descoberta de regiões auríferas, o que gerou uma maior importação de mão de obra escrava para trabalhar nestes locais. Os negros denominados de *Minas*, provavelmente fulas ou ashantis, eram especialmente preferidos por sua boa aparência, seu porte e a fama das negras na perícia culinária. Segundo VIANA-FILHO (1988), a Costa da Mina foi um mercado farto de escravos para a Bahia no século XVIII, quando 70% dos negros que chegaram à Bahia eram sudaneses. Parte dos que chegaram foram para as minas no interior da colônia; os que ficaram na capital tiveram grande influência no comportamento social do negro da Bahia, pois os sudaneses participaram ativamente das revoltas que ocorreram nas três primeiras décadas do século XIX.

A distribuição da população Afro-descendente ao longo do território do Brasil foi muito heterogênea. As maiores concentrações ocorreram em Minas Gerais e, a seguir, na Bahia, Rio de Janeiro, Maranhão, Pernambuco, São Paulo e Ceará. Em Minas Gerais podemos encontrar a maior mistura genética e cultural da população Afro-descendente. Com a descoberta das minas no século XVIII aconteceu o transporte de escravos de várias regiões brasileiras para trabalhar em Minas Gerais. Com o decorrer do tempo, a demanda por mão de obra se tornou maior e novas levadas de escravos Africanos, que chegavam pela Bahia, foram importadas. De início

utilizou-se a população de Angola, mas depois foram capturados escravos preferencialmente na região da Costa da Mina, sudaneses que tinham um padrão cultural mais elevado. O principal foco de distribuição de escravos foi a Bahia, que os recebia de várias regiões da África e distribuía para várias regiões. Focos menores, porém de importância, foram o Rio de Janeiro, Maranhão, São Paulo, Pernambuco e Minas Gerais (SALZANO e FREIRE-MAIA, 1967).

FIGURA 1 – PRINCIPAIS ROTAS E PORTOS DE TRANSPORTE DE ESCRAVOS AFRICANOS PARA O BRASIL



1.3 POPULAÇÃO PARANAENSE E CURITIBANA

A mineração, a criação e o comércio de gado (tropeirismo), e a agricultura formaram três ciclos de povoamento do Paraná. Curitiba surgiu, inicialmente, da reunião de portugueses, espanhóis e seus descendentes, que vieram da capitania paulista de São Vicente e da Vila de Paranaguá, no litoral paranaense (CULPI, 1981).

Segundo MARTINS (1937) apud CULPI (1981, p. 27), a primeira descrição da população do território paranaense data de 1780, quando este possuía 17.685 habitantes. Desses, 12.349 eram brancos e 5.336 eram negros e mulatos. Em 1853 o Paraná emancipou-se da Província de São Paulo. Curitiba na época era povoada por Europeus, principalmente portugueses e espanhóis, índios Guaranis, negros Africanos escravizados e descendentes desses três grupos. Os seus 5.810 habitantes foram classificados em 4.102 brancos, 955 mulatos e pardos e 762 negros. Do total, 2.940 eram homens e 2.879 eram mulheres.

A partir de 1831 a importação de escravos Africanos começou a ser bastante dificultada pela Inglaterra. Com isso o Brasil acelerou a imigração Européia, com o objetivo principal de fornecer mão de obra para a agricultura. Os primeiros imigrantes a chegarem na região de Curitiba, nesta época, foram 280 alemães vindos da região de Joinville, onde tinham se fixado primeiramente. Eles ocuparam a parte norte da região em pequenas chácaras pois no Paraná a estratégia foi criar organizações agrícolas distribuídas nos arredores de centros urbanos (BALHANA, 1969; apud CULPI, 1981; p. 28).

A composição dos grupos imigrantes estabelecidos na região de Curitiba nesta época foi bastante heterogênea, compreendendo poloneses, alemães, italianos, franceses, suíços, ingleses e outros. Desses grupos, os poloneses constituíram o maior contingente. A população negra e mulata nunca foi numerosa no Paraná. Num recenseamento realizado em 1890, a população total era composta de 5,17% de negros, sendo este um dos menores coeficientes do País. No mesmo período, São Paulo possuía 12,9%, o Rio de Janeiro 26,8% e a Bahia 29,3%. No recenseamento de 1950, Curitiba possuía 180.575 habitantes que representavam 8,5% da população do Estado, sendo 93,9% brancos, 3,9% mulatos, 1,8% negros e 0,4% descendentes Asiáticos e Ameríndios (CULPI, 1981).

Os Ameríndios paranaenses eram representados pelas tribos Guaraní, Kaingang e Xetá, principalmente. O grupo Guaraní se encontrava disperso pelo litoral e pelo interior do estado, principalmente às margens dos grandes rios. Pequenos grupos Guaranis podem ser encontrados até hoje nas reservas do Estado. Os Kaingangues se encontravam preferencialmente no segundo e terceiro planaltos paranaenses (Campos Gerais, de Guarapuava e de Palmas). Junto com os Guaranis, os Kaingangues são os Ameríndios mais predominantes no Sul do Brasil. Os Xetás eram um grupo que se manteve a parte da comunidade neo-brasileira, na região noroeste paranaense. Em 1957, esse isolamento foi quebrado e a grande maioria de sua população foi dizimada. O componente indígena existe na população paranaense, porém como nos demais estados da região Sul do Brasil, sua contribuição para a formação étnica não foi tão significativa como na região Norte, por exemplo (PROBST, 2000)

A partir de 1862, a qualidade das terras paranaenses e as perspectivas de lucro atraíram considerável número de imigrantes. Companhias colonizadoras adquiriram grandes áreas de terra, que eram divididas e vendidas sob forma de lotes agrícolas. Os primeiros a chegar foram os paulistas e mineiros, que se estabeleceram na região hoje denominada Norte Velho. Posteriormente, foi o Norte Novo que recebeu uma ação colonizadora semelhante. Por sua vez, a ocupação efetiva das terras do Oeste e Sudoeste do Paraná iniciou-se a partir de 1920, com a vinda de mais de 500 famílias do Rio Grande do Sul e de Estados limítrofes (WESTPHALEN et al., 1968; apud CULPI, 1981; p. 30).

Segundo CULPI (1981), inicialmente, com a imigração vinda do exterior e, posteriormente, com a crescente imigração proveniente de outros Estados, a população do Paraná aumentou consideravelmente com o passar dos anos. Mas a composição étnica da população manteve-se semelhante nos diversos períodos sendo predominantemente Européia seguida de uma pequena proporção Afro-descendente, Asiática e Ameríndia.

Com base em dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2006) e do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES, 2006), o Estado do Paraná possui 9.563.458 habitantes segundo o censo de 2000. Segundo a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios de 2004 (IBGE, 2006) 49% da população do Estado é composta de homens e 51% de

mulheres. Quanto à cor, 76% dos indivíduos são brancos, 22% mestiços ou pardos e 2% negros.

A caracterização étnica da população paranaense e curitibana é importante uma vez que as amostras avaliadas neste estudo são do Sul do Brasil, porém predominantemente coletadas na região de Curitiba e do Estado do Paraná nas unidades do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR) e durante campanhas pela Doação de Medula Óssea organizadas pelo Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade (LIGH) pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR).

1.4 GENES DO BIOMETABOLISMO

A suscetibilidade aos danos causados por compostos químicos estranhos ao metabolismo individual, os chamados xenobióticos, pode ser devida a características genéticas ou adquiridas, estando associada a diferenças no metabolismo entre os indivíduos (AUTRUP, 2000). Os níveis de adutos no DNA formados em diferentes células ou tecidos, freqüentemente dependem da eficiência de enzimas metabolizadoras de agentes mutagênicos e suas formas ativas.

Diferentes estudos sugerem que inúmeros sistemas genéticos de controle e modulação do metabolismo enzimático de xenobióticos estão envolvidos na gênese de diferentes tipos de tumores (WÜNSCH e GATTÁS, 2001). A variação interindividual para metabolizar xenobióticos, também chamada de polimorfismo metabólico, pode ser de substancial importância na determinação deste risco e, portanto, a análise da distribuição étnica destes polimorfismos é importante para identificar grupos de maior risco.

Para evitar o acúmulo de xenobióticos nocivos nas células, os organismos vivos desenvolveram diferentes vias de eliminação de compostos químicos estranhos. Embora um grande número de enzimas seja necessário para reconhecer e metabolizar todos os possíveis compostos, a biotransformação de xenobióticos foi dividida em dois estágios: primeiramente, as drogas são metabolizadas por enzimas da fase I, muitas vezes numa reação de oxidação para a criação de centros reativos (HATAGIMA, 2002). Na fase II, enzimas introduzem compostos hidrofílicos, semelhantes à glutationa ou um grupo acetil, dentro da molécula para permitir que ela seja eliminada (GATTÁS e SOARES VIERA, 2000).

Muitas famílias de enzimas diferentes estão envolvidas no metabolismo de xenobióticos mas as principais são: Citocromo P450 (CYPs), Glutathione S-transferases (GSTs) e N-acetil-transferases (NATs). As enzimas da Família CYP atuam na fase I, também chamada fase de ativação, e as enzimas pertencentes às Famílias GSTs e NATs atuam na fase II, também chamada de fase de detoxificação (AUTRUP, 2000).

As enzimas pertencentes a estas famílias são codificadas pelos chamados genes do biometabolismo, que apresentam diferenças na freqüência de determinados alelos observadas entre populações de diversas origens étnicas

(WÜNSCH e GATTÁS, 2001). Segundo WÜNSCH e GATTÁS (2001) o polimorfismo de um ou mais genes, que codificam essas enzimas, leva ao aumento da ativação de agentes mutagênicos e/ou carcinogênicos ou diminui a capacidade de inativá-los (ou ambas as situações), sendo provável que indivíduos portadores de algumas dessas variantes tenham risco aumentado de câncer quando expostos a carcinógenos.

1.4.1 Família Citocromo P450 (CYP)

O termo citocromo P450 é aplicado a um grupo de proteínas que contêm um grupamento heme e que diferem levemente umas das outras quanto aos seus pesos moleculares, ao espectro de ligação com o monóxido de carbono (CO), às propriedades eletroforéticas e imunológicas, e às atividades catalíticas para as diferentes drogas (KALANT e ROSCHLAV, 1991). O genoma humano contém cerca de 50 diferentes genes P450, subdivididos em 10 subfamílias. Essas enzimas estão envolvidas no metabolismo de ácidos graxos, esteróides e xenobióticos. No tecido hepático existem altos índices de expressão de *CYPs*, mas todos os tecidos expressam essas enzimas em nível tecido-específico. Os membros das subfamílias *CYP1*, *CYP2* e *CYP3* são mais envolvidos com o metabolismo de xenobióticos e participam da fase I, chamada também de ativação (AUTRUP, 2000).

O gene *CYP1A1* pertence à subfamília *CYP1* da grande família do citocromo P450 e codifica para a enzima Aril Hidrocarbono Hidroxilase (AHH). Esta enzima catalisa o primeiro passo no metabolismo de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, tal como aqueles encontrados na fumaça do cigarro, transformando-os em carcinógenos (HATAGIMA, 2002).

O gene *CYP1A1* está localizado no cromossomo 15 (15q22-24) (HILDEBRAND et al., 1985) e foram descritos vários padrões de polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição (RFLP). O mais citado deles, pode ser detectado através do uso da enzima de restrição *MspI*, originado pela mutação T₆₂₃₅→C na região não codificante 3', resultando no alelo polimórfico denominado *CYP1A1*2A* (WALKER, 1996). Indivíduos com o alelo mutante têm aumento na atividade da AHH. As frequências destes polimorfismos mostram extensa variação étnica como será descrito posteriormente.

Uma segunda mutação de ponto ($A_{4889} \rightarrow G$) é responsável por outro polimorfismo no exon 7 de *CYP1A1*, originando o alelo polimórfico *CYP1A1*2B*, que se encontra em desequilíbrio de ligação com o alelo *CYP1A1*2A* (HAYASHI, WATANABE e KAWAJIRI, 1991). Tal mutação leva à substituição do aminoácido isoleucina (Ile) por uma valina (Val) no resíduo 462. Este polimorfismo resulta em dois genótipos homozigotos (*Ile/Ile* e *Val/Val*) e um heterozigoto (*Ile/Val*) e, no caso de os alelos serem mutantes, leva à diminuição da atividade catalítica da enzima, pois a mutação está presente nos aminoácidos da região catalítica *heme* ligante (NAKACHI et al., 1991).

Essas variantes combinadas com exposição ambiental têm sido estudadas com base na hipótese de estarem conferindo um risco diferencial ao câncer para os indivíduos que as carregam (OLSHAN et al., 2000). Os estudos com os polimorfismos do gene *CYP1A1* têm encontrado freqüências diferentes nos principais grupos étnicos estudados, Europeus e Euro-descendentes, Afro-descendentes e Asiáticos (GARTE et al., 2001).

Os polimorfismos da enzima CYP2D6 (debrisoquina hidroxilase) fazem parte de uma das mais estudadas deficiências enzimáticas humanas. Três alterações foram inicialmente descritas para o gene *CYP2D6*, alelos mutantes A e B e uma deleção completa do gene. Subseqüentemente, outros alelos foram descritos em diferentes grupos étnicos (RAUNIO et al., 1995). Estas variantes são resultantes de mutações de ponto, deleções, adições, rearranjos gênicos e deleções ou duplicações do gene inteiro, resultando em um aumento, redução ou completa perda da atividade da enzima (INGELMAN – SUNDBERG e EVANS, 2001; MA, WOO e McLEOD, 2002; KITADA, 2003).

O gene *CYP2D6* está localizado no cromossomo 22q13.1 (GOUGH et al., 1990) e codifica a enzima debrisoquina hidroxilase que está envolvida em diversos passos do metabolismo secundário de drogas no tecido hepático. Indivíduos portadores de variantes do gene *CYP2D6* podem ser classificados de acordo com quatro níveis de atividade: metabolizadores pobres (PMs), metabolizadores intermediários (IMs), metabolizadores rápidos (EMs) e metabolizadores ultra-rápidos (UMs) (JANN e COHEN, 2000). O fenótipo EM é expresso pela maioria da

população, sendo considerado como “normal” (EVANS e RELING, 2004; ZANGER, RAIMUNDO e EICHELBAUM, 2004).

O gene *CYP2D6* participa do metabolismo de aproximadamente 25% de todas as medicações de uso clínico, como o tamoxifeno e alguns citotóxicos (WOLF et al., 1992; INGELMAN – SUNDBERG e EVANS, 2001). A debrisoquina hidroxilase (*CYP2D6*) catalisa o metabolismo de mais de trinta medicamentos comumente prescritos, inclusive antagonistas de receptor beta (metoprolol, propranolol), antiarrítmicos (encainide, propafenone), antidepressivos (imipramine, desipramine), analgésicos (codeína), e antipsicóticos (haloperidol, thioridazine). Estudos em populações mostraram que 7 a 10% dos norte-americanos e Europeus são deficientes na atividade da enzima *CYP2D6*, resultando em metabolismo significativamente prejudicado de medicamentos que são substratos somente para esta enzima (EVANS et al., 1993).

MURA et al. (1993) descreveram que indivíduos EM para o gene *CYP2D6* exibem atividade metabólica altamente variável. Em um estudo de famílias franco-canadenses, foi descrito um subgrupo de indivíduos EM heterozigotos, e um segundo nível de heterogeneidade foi descoberto entre indivíduos não portadores de mutações, definido por variantes para a enzima *Bam*HI. Combinações diferentes de haplótipos foram associadas com diferenças na atividade metabólica de *CYP2D6*. MURA et al. (1993) sugeriram que a heterogeneidade genética e fenotípica em EMs podem gerar dados contraditórios na relação entre atividade de *CYP2D6* e suscetibilidade ao câncer.

BERTILSSON et al. (1993) e JOHANSSON et al. (1993) sugeriram que a base genética do fenótipo de metabolização ultra-rápida é a duplicação do gene ou amplificação do gene *CYP2D6*, resultando em níveis mais altos da enzima que é expressa. JOHANSSON et al. (1993) encontraram 12 cópias extras do gene de *CYP2D6* associadas à uma variante chamada *CYP2D6L*. Outros indivíduos com genes duplicados de *CYP2D6* com 3, 4 ou 5 cópias de um alelo foram também identificados (DAHL et al., 1995; AKULLU et al., 1996).

O alelo mutante mais freqüente é o *CYP2D6*4* (28,6%) e apresenta uma transição G₁₉₃₄→A. A mutação remove o sítio de restrição da enzima *Bst*NI e está presente no intron 3 gerando um códon de parada prematuro no resíduo 544, originando um produto não funcional (STUVEN et al., 1996; CARACO, 2004). A

Indivíduos com esta mutação apresentam o fenótipo PM, com um risco elevado de efeitos colaterais ou falhas terapêuticas durante o tratamento com drogas metabolizadas pelo *CYP2D6* (STUVEN et al., 1996).

A enzima *CYP2E1* está envolvida na oxidação de uma série de componentes orgânicos de baixo peso molecular, incluindo benzeno, N-nitrosamina e etanol (GATTÁS e SOARES-VIEIRA, 2000). O gene *CYP2E1* está localizado no cromossomo 10q24.3, entre outros dois genes de subfamílias diferentes de *CYPs*, *CYP2C* e *CYP17* (KOLBLE, 1993). Ao todo, foram descritas 13 variantes alélicas para o gene *CYP2E1* (INGELMAN-SUNDBERG et al., 2006) e é possível que variantes alélicas apresentem diferentes níveis de expressão da enzima, influenciando assim a suscetibilidade individual a carcinógenos (PERSSON et al., 1993). Um dos polimorfismos descritos para este gene apresenta um sítio de restrição para a enzima *Pst*I no alelo mutante (*CYP2E1*5B*) devido a uma substituição G₋₁₂₉₃→C (região promotora 5') do alelo selvagem (*CYP2E1*1A*) (PERSSON et al., 1993), o que afetaria a transcrição, associando esse alelo com um aumento à suscetibilidade ao câncer de pulmão em fumantes (AUTRUP, 2000).

Uma grande variação interindividual desta enzima tem sido observada e várias variantes genéticas polimórficas, que podem explicar essa variação, têm sido identificadas. RAUNIO et al. (1995) apontam uma grande variação da frequência do polimorfismo *CYP2E1*5B* em diversas populações de diferentes etnias e ressaltam a importância de outros estudos para interpretar o possível papel destas variantes na suscetibilidade ao câncer de pulmão.

Segundo AUTRUP (2000), pacientes que apresentam genótipo “suscetível” desenvolvem câncer de pulmão com uma idade precoce e com baixa dose de exposição ao cigarro, ou seja, com pouco consumo de cigarros/ano. Não foi encontrada associação entre o polimorfismo *CYP2E1*5B* e o aumento da toxicidade provocada por benzeno em indivíduos expostos ocupacionalmente.

A enzima *CYP2E1* também tem um importante papel na conversão de etanol para acetaldeído e acetato, juntamente com as enzimas 2-alcool-desidrogenase e 2-aldeído-desidrogenase. Foram encontrados polimorfismos relacionados às três enzimas com diferentes frequências em grupos étnicos distintos conferindo níveis variáveis de metabolismo de etanol (HAYASHI, WATANABE e KAWAJIRI, 1991).

Neste trabalho utilizou-se a nomenclatura descrita por INGELMAN-SUNDBERG et al. (2006), reunida na Tabela 2.

TABELA 2 – NOMENCLATURA DE ALELO E PROTEÍNA RELACIONADA, ENZIMA DE RESTRIÇÃO PARA DETECÇÃO DO ALELO E NOME COMUM DOS GENES *CYP1A1*, *CYP2E1* E *CYP2D6*

Alelos	Proteína	Enzima de Restrição	Nome Comum
<i>CYP1A1*1A</i>	CYP1A1.1	Não tem sítio de restrição	tipo selvagem
<i>CYP1A1*2A</i>	CYP1A1.1	<i>MspI</i>	m1
<i>CYP2E1*1A</i>	CYP2E1.1	Não tem sítio de restrição	c1
<i>CYP2E1*5B</i>	CYP2E1.1	<i>PstI</i> e <i>RsaI</i>	c2
<i>CYP2D6*1A</i>	CYP2D6.1	<i>BstNI</i>	A1
<i>CYP2D6*4</i>	-	Não tem sítio de restrição	A2

FONTE: INGELMAN-SUNDBERG et al. (2006)

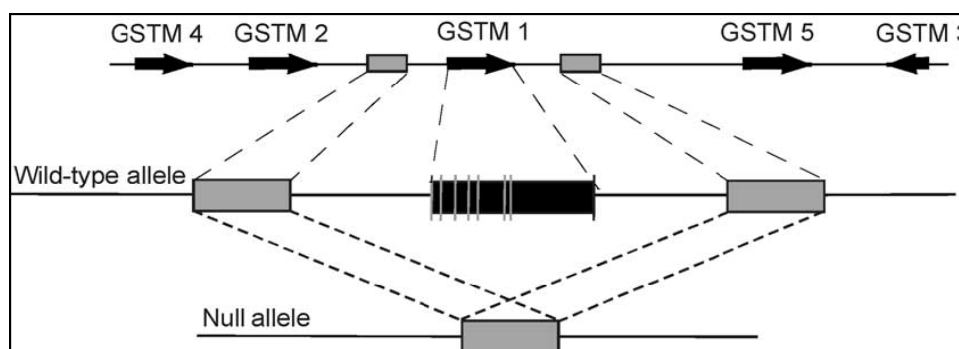
1.4.2 Família Glutathione S-Transferase (GST)

As glutathionas S-transferases (GST) constituem um importante sistema enzimático do mecanismo celular de detoxificação estando envolvidas no metabolismo de xenobióticos que incluem carcinógenos ambientais, espécies de oxigênio reativos e agentes quimioterapêuticos (GATTÁS *et al.*, 2004). As GST formam uma família multigênica com quatro diferentes classes de isoenzimas da fase II: α , μ , π e θ ; incluindo os locos *GSTM1*(μ), *GSTT1*(θ) e *GSTP1*(π). Sua função primária é detoxificar eletrólitos capazes de se ligar ao DNA; sendo que também têm um papel importante na proteção de tecidos do estresse oxidativo (GATTÁS e SOARES VIEIRA, 2000).

Segundo HATAGIMA (2002), todos os genes da classe μ foram mapeados no braço curto do cromossomo 1, e especificamente o gene *GSTM1* está localizado em 1p13. Os genes estão separados por aproximadamente 20 kb e na seguinte sequência: 5'...*GSTM4* – *GSTM2* – *GSTM1* – *GSTM5* – *GSTM3*...3'. O gene *GSTM3* localiza-se após o *GSTM5*, porém numa orientação 3'→5'. Para o gene *GSTM1*,

existe uma permuta desigual entre duas regiões altamente repetitivas idênticas que o flanqueiam, resultando em uma deleção de 16 kb que inclui todo o gene (Figura 2). Diferenças interindividuais para o gene *GSTM1* são devidas à deleção do gene (genótipo nulo) ou à variação alélica que resulta na produção de uma proteína com atividade catalítica muito similar (*GSTM1A* e *GSTM1B*) (AUTRUP, 2000).

FIGURA 2 - LOCALIZAÇÃO DE GENES DA FAMÍLIA GST CLASSE MU E DELEÇÃO COMPLETA DO GENE *GSTM1*

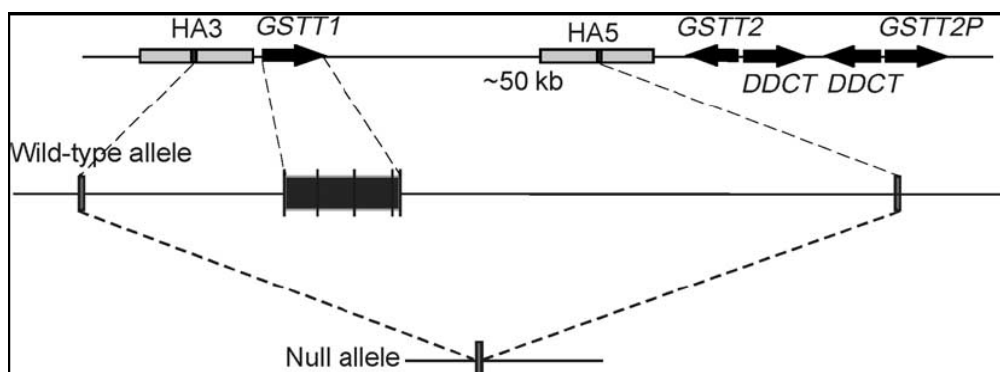


FONTE: PARL (2005)

O gene *GSTT1* tem 8,1 kb, foi mapeado no cromossomo 22q11.2 e apresenta dois diferentes alelos funcionais (GATTÁS et al., 2004). De maneira semelhante ao gene *GSTM1*, existe uma deleção do *GSTT1* aparentemente causada por uma recombinação homóloga envolvendo duas seqüências altamente repetitivas que flanqueiam o gene (HA3 e HA5), resultando na perda de 54 kb que contém o gene inteiro (Figura 3) (PARL, 2005). Indivíduos com pelo menos um alelo funcional para *GSTM1* e *GSTT1* estão agrupados nos tipos de conjugação positiva e são chamados *GSTM1-positivos* e *GSTT1-positivos* respectivamente. Por outro lado, os indivíduos que possuem deleção dos genes e, conseqüentemente a ausência ou a forma inativa das enzimas, são denominados de portadores do genótipo “*GSTM1-nulo*” (*GSTM1*0*) e “*GSTT1-nulo*” (*GSTT1*0*). A variabilidade na distribuição de genótipos nulos para *GSTM1* e *GSTT1*, devido à deleção gênica total ou parcial, tem sido descrita em diferentes populações, especialmente em grupos étnicos bem definidos (GATTÁS et al., 2004). Aproximadamente 50% da população Européia ou Euro-descendente apresenta o genótipo *GSTM1-nulo* e 20% apresenta o genótipo *GSTT1-nulo* (RAUNIO et al., 1995; ARRUDA et al., 1998; GEISLER e OLSHAN.,

2001; LOSI-GUEMBAROVSKI, D'ARCE e CÓLLUS, 2002; ROSSINI et al., 2002; GATTÁS et al., 2004).

FIGURA 3 – DELEÇÃO COMPLETA DO GENE *GSTT1*



FONTE: PARL (2005)

O gene *GSTP1* está localizado no cromossomo 11q13 e codifica uma enzima expressa primariamente em tecidos da placenta, baço, coração e pulmão. BOARD et al. (1990) descreveram três diferentes alelos *GSTP1*, sendo estes denominados *GSTP1a* (ou *GSTP1*A*), que é o alelo selvagem, *GSTP1b* (*GSTP1*B*) e *GSTP1c* (*GSTP1*C*). A variante *GSTP1*B* apresenta uma transição $A_{313} \rightarrow G$ no exon 5, mudando o códon 105 de ATC (Ile) para GTC (Val). O *GSTP1*C* é caracterizado por duas transições de nucleotídeos, sendo a primeira, a mesma observada no *GSTP1*B*, e a segunda, uma transição $C_{341} \rightarrow T$ no exon 6, resultando na mudança de GCG (Ala) para GTG (Val) no códon 114.

O códon 105 compreende parte do sítio ativo da enzima *GSTP1* para a ligação de eletrofílicos reativos, e a substituição $Ile_{105} \rightarrow Val$ nas variantes *GSTP1*B* e *GSTP1*C* afeta a atividade catalítica substrato-específica e a estabilidade térmica da proteína codificada (JOHANSSON et al., 1998; PANDYA et al., 2000). Variações estruturais adicionais causadas pela mudança do aminoácido alanina para valina no códon 114 na *GSTP1*C* são de menor magnitude do que aquelas causadas por mudanças no códon 105, não possuindo tanto impacto na atividade catalítica.

As enzimas pertencentes à família GST estão envolvidas no metabolismo de vários xenobióticos. NORPPA (2003) enumera algumas substâncias como 1,2:3,4-diepoxibutano, um composto resultante do metabolismo do 1,3-butadieno, que depende da ação da enzima *GSTT1* para seu processamento, e o 1,2-epoxi-3-

buteno, outro composto resultante do 1,3-butadieno, que tem seu metabolismo relacionado com variantes de *GSTM1*. Estes compostos são derivados do estireno e o metabolismo para sua eliminação está claramente relacionado com as enzimas da família GST em indivíduos que desenvolvem atividades em contato com este composto. Ainda neste trabalho, NORPPA (2003) cita a importância das enzimas da família GST para a metabolização dos compostos do cigarro. Alguns estudos demonstram que fumantes com genótipo nulo para *GSTM1* têm risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e de bexiga, mas esta relação ainda não está bem esclarecida, uma vez que outros autores também têm descrito um risco maior em indivíduos com o genótipo nulo em não fumantes (GEISLER e OLSHAN, 2001).

Com relação à enzima especificada pelo gene *GSTP1*, estudos têm demonstrado relações com compostos do cigarro, como o benzo[a]pireno diol-epóxido e acroleína. A enzima GSTP1 também está envolvida na detoxificação de produtos reativos da timidina e uracil-propenal (YANG et al., 2005). Outra ação importante da enzima GSTP1 é a resistência a quimioterápicos no tratamento de alguns tipos de câncer. Através de sua ação de detoxificação, a GSTP1 poderia estar sendo um obstáculo para o sucesso de agentes químicos que destroem células neoplásicas (TEPSIRI et al., 2005).

Como citado anteriormente, as GST são responsáveis pela segunda etapa do metabolismo de xenobióticos, a detoxificação. Uma falta ou redução da atividade dessas enzimas, observada em indivíduos com o genótipo nulo ou com variantes polimórficas, pode causar o acúmulo de componentes metabólicos provenientes da primeira etapa. Estes componentes podem formar adutos e provocar mutações em genes críticos como oncogenes e/ou supressores tumorais aumentando a probabilidade do desenvolvimento de uma neoplasia. Segundo AUTRUP (2000), indivíduos classificados como *GSTM1*0* devem teoricamente ter um alto nível de adutos comparados com indivíduos que expressam o gene.

Fumantes apresentando o genótipo *GSTT1*0* têm mais aberrações cromossômicas detectadas por hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) do que fumantes que expressam o gene. Estudos epidemiológicos não mostram associação clara entre o genótipo *GSTT1*0* e o desenvolvimento de câncer. Ao contrário, um aumento no risco de câncer de bexiga foi observado em não fumantes com expressão aumentada do *GSTT1* (AUTRUP, 2000).

1.5 ETNICIDADE, EPIDEMIOLOGIA E OS GENES DO BIOMETABOLISMO

A etiologia de grande parte das doenças que afetam as populações humanas é associada a fatores genéticos que são amplamente influenciados por componentes ambientais (doenças complexas). Para compreensão destas variáveis é necessário um conhecimento amplo principalmente dos aspectos genéticos, uma vez que estes são intrínsecos aos indivíduos e/ou às populações.

A classificação das raças humanas é arbitrária, existindo, porém, como construção social que foi mudando com o tempo através de contextos sociais e foram sustentadas pela ideologia racial. Os traços físicos de um indivíduo, especialmente a pigmentação da pele, cor e textura do cabelo, e formas dos lábios e nariz, são constantemente utilizados para a categorização racial e desta maneira, costumam ser usados como fatores de segregação social. Entretanto, acredita-se que estes traços oligogenéticos se estabeleceram em consequência aos fatores geográficos seletivos, como a radiação e o calor, e sua utilização como marcadores de “raça” pode ser biologicamente errônea (PARRA et al., 2002). Entretanto, a distribuição da variação genética difere entre os principais grupos humanos.

ROSENBERG et al. (2002) estudaram 1056 indivíduos de 52 populações humanas diferentes através de 377 locos de microssatélites e concluíram que a maior variação genética está presente dentro das populações, entre os indivíduos classificados como pertencentes ao mesmo grupo étnico (93 a 95% da variação genética existente) do que entre os indivíduos das populações de grupos étnicos diferentes (3 a 5% da variação genética existente).

Segundo PEARCE et al. (2005), a etnicidade de uma população é uma construção complexa que inclui biologia, história, orientação cultural e prática, idioma, religião e estilo de vida, ou seja, vários fatores que podem influenciar na saúde dos indivíduos. A ausência de amplas diferenças genéticas sistemáticas entre grupos étnicos, aliada à presença de grandes diferenças em estilo de vida (dieta, álcool, alojamento, tabagismo e etc.), ressalta a importância de estudos que têm por objetivo caracterizar marcadores genéticos que possam predispor determinados grupos às doenças complexas.

ROSENBERG et al. (2002) apontam a importância da classificação genética de amostras de populações utilizadas em estudos caso-controle para melhor

avaliação dos resultados. A classificação com base em dados fenotípicos é pouco consistente. Já aquela com base na ancestralidade informada pelos indivíduos fica próxima à ancestralidade genética, porém em estudos caso-controle, nos quais é necessária uma análise estatística criteriosa dos resultados, essa classificação não é indicada. Sendo assim, uma avaliação genética da ancestralidade das populações, das quais foram retiradas as amostras em estudos caso-controle, pode evitar resultados de associação falso-positivos ou falso-negativos.

A variabilidade interindividual no metabolismo de xenobióticos tem sido associada com a maior ou menor suscetibilidade ao risco de desenvolvimento de neoplasias ou outras doenças complexas. O conhecimento desta variabilidade na suscetibilidade e a identificação de fatores de risco são de grande importância para o desenvolvimento de medidas de prevenção. Para uma avaliação mais consistente da participação de fatores genéticos em populações especiais é de fundamental importância o conhecimento da distribuição dos mesmos nas populações das quais as amostras foram obtidas (RAUNIO *et al.*, 1995).

1.5.1 Etnicidade e Epidemiologia Relacionada à Família CYP

Vários genes da família CYP que codificam produtos envolvidos em etapas do biometabolismo têm sido estudados nas diferentes populações. Os grupos mais estudados são os Europeus, Africanos, Asiáticos e seus descendentes miscigenados. A maioria dos trabalhos envolve estudos tipo caso-controle em doenças complexas, sendo que a mais estudada tem sido o câncer, principalmente o de pulmão, mama e cabeça e pescoço. Sendo assim, as informações de frequências alélicas e genotípicas são obtidas principalmente dos indivíduos controles desses estudos.

1.5.1.1 CYP1A1

As variantes do gene *CYP1A1* são freqüentemente avaliadas em estudos caso-controle no grupo caucasóide. GARTE *et al.* (2001) obtiveram as frequências dos polimorfismos dos genes envolvidos no biometabolismo em populações controle, em um estudo colaborativo que envolveu a compilação de dados de 73 estudos

independentes, realizados por 52 laboratórios. Para o polimorfismo *MspI*, as frequências obtidas numa amostra de 4.453 indivíduos Europeus e Euro-descendentes foram: 82,4% de portadores do genótipo *CYP1A1*1A1A*; 16,4% de heterozigotos *CYP1A1*1A2A*; e 1,2% de *CYP1A1*2A2A*.

Entre as principais neoplasias estudadas encontram-se os cânceres de pulmão (HUNG et al., 2003; TAIOLI et al., 2003; RAIMONDI et al., 2005; WENZLAFF et al., 2005), de mama (BAILEY et al., 1998; LI et al., 2004; LE MARCHAND et al., 2005; MASSON et al., 2005), e cabeça e pescoço (OLSHAN et al., 2000; ALI et al., 2004; GAJECKA et al., 2005; LEICHSENTRING et al., 2006). Ainda podem ser encontrados estudos envolvendo outros tipos de neoplasias como carcinoma de células renais (LONGUEMAUX et al., 1999).

A associação das variantes do gene *CYP1A1* e neoplasias de pulmão permanece controversa. WENZLAFF et al. (2005) avaliaram 159 pacientes e 179 controles e não encontraram diferença estatisticamente significativa entre as frequências das variantes analisadas deste gene nos dois grupos. Outros estudos também não encontraram diferenças entre pacientes e controles (CASCORBI, BROCKMÖLLER e ROOTS, 1996; GSUR, HAIDINGER e HOLLAUS, 2001; YIN et al., 2001). Entretanto, em uma meta-análise, RAIMONDI et al. (2005) avaliaram 21 estudos caso-controle com um total de 2.764 indivíduos Europeus e Euro-descendentes analisados (555 pacientes e 2209 controles) e encontraram associação entre as variantes *MspI* e *Ile*⁴³²*Val* e câncer de pulmão, além de um efeito protetor da combinação do genótipo selvagem para o gene *CYP1A1*, da variante *GSTM1*0* e a variante selvagem do gene *GSTT1*. Este último trabalho reforça a hipótese que estudos de associação necessitam de um número grande de pacientes e controles para permitir a obtenção de informações mais consistentes.

Com relação a associações do gene *CYP1A1* e neoplasias mamárias, em Europeus e Euro-descendentes parece não haver influência isoladamente. Estudos com as variantes *2A, *2C e *4, em amostras de 207, 1948 e 1873 indivíduos, respectivamente (BASHAM et al., 2001; DIALYNA, ARVANITIS e SPANDIDOS, 2001; THIER et al., 2003) não encontraram associação. Em meta-análise de 17 estudos caso-controle com variantes do gene *CYP1A1* e câncer de mama, MASSON et al. (2005) também não encontraram qualquer associação.

A associação entre pacientes portadores de neoplasias de cabeça e pescoço e mutações para o gene *CYP1A1* parece ser encontrada somente quando em combinação com variantes de outros genes de suscetibilidade. OLSHAN et al. (2000) encontrou risco alto para indivíduos que possuíam a combinação das variantes *GSTM1*0* e *CYP1A1*2B* e eram fumantes, indicando a importância da análise de combinações de genótipos de risco em associação com as neoplasias estudadas.

Em relação à população Afro-descendente, vários trabalhos foram realizados para verificar a associação entre os polimorfismos do gene *CYP1A1* e o câncer de pulmão (KELSEY, WIENCKE e SPITZ, 1994; LONDON et al., 1995; TAIOLI et al., 1998; WENZLAFF et al., 2005; WRENSCH et al., 2005), porém os resultados ainda são controversos. Já em alguns estudos de associação com câncer de mama (TAIOLI et al., 1995; TROCK, 1996; BAILEY et al., 1998; LI et al., 2004, ZHU et al., 2006), foi encontrada uma possível associação, exceto em um trabalho que também analisou os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em 59 mulheres Afro-americanas e não encontrou associação (BAILEY et al., 1998). LE MARCHAND et al. (2005) avaliaram vários polimorfismos do gene *CYP1A1*, entre outros genes, e concluíram que estas variantes são importantes no metabolismo do estrógeno circulante, aumentando o risco de desenvolvimento de câncer de mama em mulheres de várias etnias, incluindo as Afro-descendentes.

Outros estudos têm sido realizados a fim de caracterizar o polimorfismo do gene *CYP1A1* em amostras de população Africana e Afro-descendente (GARTE et al., 1996). DANDARA et al. (2002) encontraram uma frequência de 1,3% da variante *Val⁴⁶²* em uma amostra de 114 indivíduos Africanos. No estudo de meta-análise de GARTE et al. (2001), foi descrita a frequência para a variante de *CYP1A1*2A* de 23,9%.

Com relação à população brasileira, trabalhando com uma amostra de 405 indivíduos da população do Rio de Janeiro, AMORIM et al. (2004) encontraram uma frequência genotípica de 83,7% para *CYP1A1*1A1A*; 15,1% para *CYP1A1*1A2B* e de 1,2% *CYP1A1*2B2B* para *CYP1A1*2B*. Para o polimorfismo *CYP1A1*4A*, as frequências genotípicas foram de 93,1% para *CYP1A1*1A1A* e 6,9% para *CYP1A1*1A4A*. Quando foram analisados somente os indivíduos negros da amostra,

estes apresentaram uma alta frequência do tipo selvagem de ambas variantes mostrando uma distribuição étnica diferencial dos polimorfismos do gene *CYP1A1*.

Outro trabalho com a população brasileira avaliou quatro amostras para a variante *CYP1A1*2C*, três Afro-descendentes e uma Euro-descendente e encontrou uma frequência de 11% para os Euro-descendentes, que não foi estatisticamente diferente das frequências encontradas nas populações européias; e uma frequência de 12% a 15% dessa variante para as amostras Afro-descendentes. Devido ao fato desse alelo não ser comum nas populações Africanas existem duas explicações para sua frequência em Afro-brasileiros: miscigenação com a população Euro-brasileira ou ameríndia e deriva genética. Entretanto nenhuma dessas hipóteses pode explicar uma frequência tão alta, assim os autores acreditam que ainda não foram estudadas populações suficientes na África para encontrar essa variante na população ancestral dos Afro-brasileiros (GASPAR et al., 2002a).

LEICHSENRING et al. (2006) avaliou a relação entre as variantes dos genes *CYP1A1* e *GSTP1* em uma amostra constituída de 72 pacientes com carcinoma bucal de células escamosas e 60 controles saudáveis da população do Sul do Brasil. Este trabalho não encontrou associação entre a presença das variantes estudadas *CYP1A1*2B* e *GSTP1*B* e risco de desenvolvimento de carcinoma bucal de células escamosas. As frequências descritas nos controles foram: *CYP1A1*2B* (13%) e *GSTP1*B* (29%).

Estudos com outras populações, principalmente Asiáticos, têm sido realizados com as variantes do gene *CYP1A1*. Uma associação significativa na população japonesa entre a suscetibilidade ao câncer de pulmão e homozigose para o alelo **2A* foi descrita por KAWAJIRI et al. (1990) e NAKACHI et al. (1991). SONG et al. (2001) estudaram as variantes **2A* e **2B* do gene *CYP1A1* em pacientes portadores de câncer de pulmão da população chinesa com relação a associação com hábito tabagista e encontraram resultados significantes indicando que essas variantes estão associadas com maior risco de desenvolvimento de câncer de pulmão em indivíduos fumantes chineses. As frequências encontradas das variantes nos controles foram: 35,0% (**2A*) e 25,6% (**2B*). KANG (2003) avaliou 335 pacientes com câncer de mama e 210 controles para duas variantes do gene *CYP1A1* na população coreana e não encontraram associação. GARTE et al. (2001) descreveram as frequências alélicas das variantes **1A* (62,5%), **2A* (14,9%), **2B*

(21,2%) e *2C (1,52%) para asiáticos; neste trabalho os autores fizeram uma meta-análise avaliando 9 estudos com 1.144 indivíduos.

E por fim, YANG et al. (2005) realizaram uma meta-análise com trabalhos que avaliaram a associação de genes envolvidos na fase I e II do biometabolismo e o câncer de esôfago. Nesta revisão foram incluídos 16 estudos caso-controles dos quais 14 incluíram populações Asiáticas (3 japonesas e 11 chinesas), sendo avaliados um total de 754 pacientes e 1.563 indivíduos controles. As variantes estudadas do gene *CYP1A1* foram *2A e *2B: para a primeira não foi encontrada nenhuma associação significativa e para a segunda foram encontradas associações em dois estudos da população chinesa (NIMURA et al., 1997; WANG et al., 2002). As frequências descritas para as variantes na meta-análise para os controles foram: *2A (11,7%), *2B (21,1%). MIYOSHI et al. (2002) estudaram variantes do gene *CYP1A1* em amostra de 195 pacientes com câncer de mama e 272 controles da população japonesa. Os autores encontraram associação entre as variantes estudadas e o risco aumentado de carcinogênese mamária.

No Apêndice 1 estão reunidos os dados presentes na literatura referentes às frequências da variante *CYP1A1**2A nos três principais grupos estudados.

1.5.1.2 *CYP2D6*

Polimorfismos genéticos do metabolismo oxidativo da debrisoquina e espartaneína, no qual a proteína *CYP2D6* está envolvida, têm sido descritos desde a década de 70. Diferenças étnicas na distribuição da atividade da *CYP2D6* podem ser encontradas nos principais grupos étnicos: chineses (Asiáticos), Afro-americanos (Afro-descendentes), suecos e espanhóis (Europeus). Segundo BOGNI et al. (2005), mais de 80 variantes alélicas do gene *CYP2D6* foram descritas. Os alelos podem ser classificados com base no nível de atividade das enzimas que codificam, em grupos funcionais, não-funcionais e de função reduzida. Frequências variadas são conhecidas para os alelos de *CYP2D6* entre grupos étnicos. Geralmente, para Europeus e os seus descendentes, o grupo funcional é predominante, com uma frequência de 71%. Alelos não funcionais representam cerca de 26% da variabilidade, principalmente o alelo *CYP2D6**4 (BRADFORD et al., 2002)

O polimorfismo deste gene pode ter um papel importante na indução dos efeitos adversos da administração de alguns agentes terapêuticos (INGELMAN – SUNDBERG, OSCARSON e McLELLAN, 1999), como aqueles aplicados na oncologia. Muitos medicamentos usados comumente na oncologia são metabolizados via CYP2D6, e os polimorfismos no gene podem potencialmente induzir importantes efeitos clínicos, que vão depender da droga envolvida e do genótipo do paciente (BERNARD et al., 2006).

Diversas variantes do gene *CYP2D6* têm sido estudadas nas populações Européias e Euro-descendentes com relação à suscetibilidade ao câncer (LONGUEMAUX et al., 1999; LAFOREST et al., 2000; GAJECKA et al., 2005), suas interações com medicamentos envolvidos na terapia das neoplasias (CAPORASO et al., 2001; BERNARD et al., 2006) e a distribuição de suas freqüências nestes grupos (GAEDIGK et al., 2002; SCORDO et al., 2004; MENOYO, DEL RIO e BAIGET, 2006).

Alguns trabalhos envolvendo as variantes deste gene e malignidades estudaram pacientes com câncer de pulmão, rim e cabeça e pescoço. LAFOREST et al. (2000), em estudo caso-controle com pacientes fumantes pertencentes à população francesa, avaliaram quatro mutações de inativação gênica (*CYP2D6**3, *4, *5 e *16) e a duplicação deste gene quanto ao possível aumento do risco de desenvolvimento de câncer de pulmão. Segundo os autores o risco não diferiu entre as diferentes classes de metabolizadores (PMs, EMs e UMs), nem a associação de maior risco entre fumantes leves ou pesados foi encontrada.

Com relação à associação das variantes desse gene e o risco de carcinoma de células renais (RCC), LONGUEMAUX et al. (1999) estudando 173 pacientes com RCC e 211 controles, todos franceses, para vários genes do biometabolismo, não encontraram associação das variantes do *CYP2D6*. Entretanto encontraram associações com as variantes dos genes *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* e *NAT2* e seus genótipos combinados. Segundo os autores, essas associações encontradas sugerem que a variação interindividual nas vias metabólicas envolvendo a detoxificação de xenobióticos específicos é um importante fator de suscetibilidade para RCC em Europeus.

Alguns trabalhos têm avaliado a freqüência das variantes do gene *CYP2D6* em amostras de população controle européia. SCORDO et al. (2004) estudaram

uma amostra de 360 indivíduos da população italiana e encontraram as seguintes distribuições: 192 indivíduos (53,3%) sem alelos mutantes (EMs homozigotos), 126 (35,0%) com pelo menos um alelo mutado (EMs heterozigotos), 12 (3,4%) com dois alelos mutados (PMs) e 30 (8,3%) com cópias extras do gene (UMs). MENOYO, DEL RIO e BAIGET (2006) estudaram uma amostra de 105 indivíduos da população espanhola e tiveram os seguintes resultados: a frequência da variante *CYP2D6**1 (tipo selvagem) foi 31%; as variantes que codificam a enzima de atividade rápida (*CYP2D6**2), moderada (*9 e *10) e reduzida apresentaram as frequências 40,47; 2,38 e 1,90%, respectivamente. As frequências das variantes *3, *4, *5 e *6 foram 0,95; 13,8; 3,33 e 0,95%, respectivamente. A duplicação gênica de *CYP2D6* foi detectada com uma frequência de 4,27%.

A ocorrência da duplicação do gene *CYP2D6* varia entre as populações. Entre 217 espanhóis saudáveis brancos, AGUNDEZ et al. (1995) determinaram que a prevalência de cópias múltiplas de *CYP2D6* foi de 7%. AKULLU et al. (1996) informaram que 29% de etíopes possuem genes extras de *CYP2D6*, e que em 1 a 2% dos suecos, alemães, chineses e negros foram descritas cópias múltiplas.

Dois trabalhos avaliaram as frequências das variantes deste gene na população hispânica. MENDOZA et al. (2001), em uma amostra de 380 indivíduos hispânicos residentes em Los Angeles, Califórnia, encontraram as seguintes frequências: 22,8% para *CYP2D6**2; 10,3% para *4; 7,4% para *10; 2,3% para *5; 1% para a duplicação gênica e aproximadamente 1% para *3 e *17. LOPEZ et al. (2005) estudando 243 mestiços mexicanos encontraram as seguintes frequências para as variantes *CYP2D6**2, *3, *4, *5, *10, *17: 19,34%; 1,44%; 11,21%; 2,67%; 12,45% e 1,65%, respectivamente. Segundo os autores as frequências para estas variantes são únicas e estão de acordo com o alto índice de miscigenação de Europeus, Asiáticos e Africanos nessa população.

A frequência de alelos funcionais em Africanos e Afro-americanos têm sido de aproximadamente 50%. A frequência média de alelos não funcionais em Afro-americanos é duas vezes maior quando comparada à frequência média dos Africanos (14,5% em Afro-americanos e 6,3% em Africanos). Alelos não funcionais e de função reduzida representam aproximadamente 35%, em geral, da frequência alélica em populações Afro-descendentes (BRADFORD, 2002).

Segundo EVANS et al. (1993) que compararam duas amostras da população norte-americana de Afro-descendentes (127 indivíduos) e de Euro-descendentes (126 indivíduos), existe uma redução na função da proteína CYP2D6 nestes grupos, porém a frequência das variantes que conferem essa redução é maior em Euro-americanos do que em Afro-americanos. Para a variante *CYP2D6*B* as frequências foram 8,5% em Afro-americanos e 23% em Euro-americanos. OZAWA et al. (2004) descreveram que a frequência de metabolizadores fracos (PM) entre Afro-americanos é de 1,8%. Esses dados indicam a importância de conhecer a dinâmica deste polimorfismo nos diferentes grupos étnicos, e principalmente em grupos miscigenados, a fim de entender a ação metabólica das enzimas variantes com relação a diferentes compostos farmacológicos que são metabolizados por elas (BERNARD et al., 2006).

OSCARSON et al. (1997) verificaram que o alelo *CYP2D6*17* é comumente distribuído entre a população do Zimbábue (34,0%), da Etiópia (9,0%) e outras populações Africanas. Assim, acima de 10% da população do Zimbábue é homozigota para este alelo, e isto tem implicações importantes para tratamento farmacológico com os substratos da CYP2D6, uma vez que este polimorfismo confere uma capacidade reduzida de metabolização desses substratos.

Segundo KIM, JOHNSON e DERENDORF (2004), existem diferenças étnicas nas fases farmacocinéticas e metabólicas entre indivíduos Europeus e Asiáticos, principalmente com relação às proteínas codificadas pelo gene *CYP2D6* e pela subfamília *CYP2C* participantes desses processos. Com relação ao gene *CYP2D6* os autores descrevem diferenças significantes quanto às frequências dos PMs entre os dois grupos citados (aproximadamente 1% em Asiáticos e de 5 a 10% em Europeus).

Entretanto, os dados entre Asiáticos são bastante heterogêneos, enquanto em alguns grupos os alelos funcionais representam 50% dos alelos de *CYP2D6*, os Asiáticos habitantes das ilhas do Pacífico têm uma frequência alta (41%) de um alelo de função reduzida, *CYP2D6*10* (BRADFORD, 2002). Outro trabalho que evidencia essa heterogeneidade avaliou as variantes deste gene em uma amostra de chineses da Malásia. Entre os 236 indivíduos estudados, nenhum apresentou combinações de genótipos que indicam fenótipo metabolizador pobre (PM), porém 40% apresentaram variantes que identificam o fenótipo metabolizador intermediário (IM)

(*CYP2D6**10/*10, *17, *4 e *9). Esses dados estão de acordo com os dados descritos para outras populações orientais que também apresentam-se heterogêneas em relação às variantes do gene *CYP2D6* (ISMAIL et al., 2003).

Por fim, THEOPHILUS et al. (2006) estudaram as variantes *CYP2D6* *2, *3, *4, *5, *10, *14 e *17 em uma amostra de 447 indivíduos do Sul da Índia. As frequências encontradas foram significativamente diferentes das encontradas nas populações Europeias, Africanas e Asiáticas, principalmente chineses e japoneses. A variante mais freqüente encontrada foi *CYP2D6* *2 (34,8%) e a variante *CYP2D6* *4 teve freqüência de 7,3%.

No Apêndice 2 estão reunidos os dados presentes na literatura referentes às frequências da variante *CYP2D6**4 nos três principais grupos estudados.

1.5.1.3 *CYP2E1*

As frequências das variantes do gene *CYP2E1* são dependentes da etnia do grupo estudado. Alguns alelos são aproximadamente dez vezes mais freqüentes em Asiáticos do que em Europeus. Entretanto, existe pouca informação sobre este polimorfismo em populações miscigenadas (ROSSINI et al., 2006).

Estudos envolvendo as variantes do gene *CYP2E1* e neoplasias, principalmente câncer de pulmão e laringe têm sido desenvolvidos (KATO et al., 1992; HIRVONEN et al., 1993; PERSSON et al., 1993; GAJECKA et al., 2005), porém os resultados ainda são controversos, possivelmente devido às dificuldades na interpretação sobre o mecanismo biológico de ação das mutações pois estas estão presentes nas regiões não codificantes do gene (RAUNIO et al., 1995).

GAJECKA et al. (2005) estudaram a variante *CYP2E1**5B em 289 pacientes com carcinoma de células escamosas de laringe e 316 controles, todos homens Europeus com hábito tabagista. Não foi encontrada diferença significativa entre as frequências da variante entre os pacientes e controles que foram 2% e 3% respectivamente. Entretanto, no mesmo trabalho os autores avaliaram os genes *CYP1A1*, *CYP2D6*, *NAT2*, *GSTM1* e *GSTT1* e encontraram diferenças significantes entre pacientes e controles para as frequências dos genótipos (isolados ou combinados) dos genes citados acima, exceto *GSTT1*. Estes dados indicam que o

polimorfismo desses genes pode ter um papel importante na etiologia do câncer de laringe.

Os polimorfismos do gene *CYP2E1* são pouco estudados em amostras de populações Africanas e Afro-descendentes. Trabalhos com amostras de populações Afro-descendentes nos EUA verificaram que existe uma possível associação entre polimorfismos do gene *CYP2E1* e pacientes fumantes que desenvolveram câncer de pulmão (KATO et al., 1994; LONDON et al., 1996; WU et al., 1997, 1998).

STEPHENS et al. (1994) analisaram as freqüências dos polimorfismos *RsaI* (*CYP2E1*5B*) e *DraI* (*CYP2E1*6*) do gene *CYP2E1* através de PCR-RFLP de 695 indivíduos pertencentes a amostras de populações Afro-americanas, Euro-americanas e tailandesas. Para os indivíduos Afro-americanos encontraram as freqüências de 0,01 e 0,08; para os Euro-americanos as freqüências foram 0,04 e 0,11; e para os tailandeses as freqüências foram 0,28 e 0,24 para os alelos mutantes dos polimorfismos descritos acima, respectivamente. As freqüências foram significativamente distintas entre os três grupos étnicos analisados. Em meta-análise GARTE et al. (2001) avaliaram 16 estudos envolvendo Europeus e Euro-descendentes totalizando 1.966 indivíduos e 5 estudos envolvendo Asiáticos totalizando 719 indivíduos. As variantes analisadas apresentaram as seguintes freqüências: para Europeus e Euro-descendentes, *5A (2,52%), *5B (0,52%) e *6 (5,33%) e para Asiáticos, *5A (24,3%), *5B (1,05%) e *6 (6,3%).

YANG et al. (2005) em meta-análise, avaliaram cinco estudos de associação entre o polimorfismo do gene *CYP2E1* e câncer de esôfago na população Asiática (três estudos com chineses e dois com japoneses) e encontraram uma freqüência de 22% da variante *5B entre os controles e a associação com risco aumentado de câncer de esôfago foi encontrada em dois trabalhos (LIN, TANG e PENG, 1998; TAN et al., 2000).

Dois trabalhos estudaram variantes do gene *CYP2E1* em amostras da população brasileira. O primeiro deles foi realizado com uma amostra de 206 indivíduos de população caucasóide e 86 indivíduos de população afro-descendente. GATTÁS e SOARES-VIEIRA (2000) encontraram uma freqüência de 11,6% do polimorfismo *PstI* entre a amostra da população Afro-descendente miscigenada, valor próximo da freqüência encontrada entre os caucasóides que foi de 10,2%. ROSSINI et al. (2006) avaliaram variantes dos genes *CYP2A6* e *CYP2E1* em uma

amostra de 289 voluntários recrutados no Laboratório Central de Hospital Universitário Pedro Ernesto (Rio de Janeiro) e foram divididos em dois grupos de acordo com a cor da pele (branco e não branco). Com relação à variante *CYP2E1*5B*, encontrou-se uma frequência de 0,07 em indivíduos brancos, a qual foi estatisticamente diferente ($p < 0,05$) da presente em indivíduos não brancos (0,03). A frequência do alelo *CYP2E1*6* foi o mesmo (0,08) em ambos os grupos. As frequências dos alelos *CYP2A6*1B*, *CYP2A6*2* e *CYP2E1*6* em brasileiros são semelhantes às encontradas em Euro-americanos e Afro-americanos, mas a frequência do alelo *CYP2E1*5B* foi mais alta em brasileiros.

Com relação a outras populações, o gene *CYP2E1* foi estudado, juntamente com os genes *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* e *TP53*, em vários grupos Ameríndios (Xavante, Guarani, Aché, Wai Wai, Zoró, Suruí e Gavião) por GASPAR et al. (2002b). Este trabalho encontrou diferentes frequências das variantes estudadas entre os grupos Ameríndios. A frequência variou de 1,9% a 42,5% para a variante *CYP2E1*5B*. Com relação aos demais genes, encontrou-se uma frequência de 72 a 100% para a variante *CYP1A1*2A* e de 54 a 100% para a variante *CYP1A1*2C*. A frequência de *GSTM1*0* e *GSTT1*0* variou de 3,9 a 43% e 0 a 30,3%, respectivamente. Os autores indicaram que esses dados podem ser interpretados como efeito de deriva gênica ou seleção a favor dessas variantes mais frequentes no início da colonização das Américas por esses grupos. Os dados desse trabalho estão resumidos e apresentados no Apêndice 8.

No Apêndice 3 estão reunidos os dados presentes na literatura referentes às frequências da variante *CYP2E1*5B* nos três principais grupos estudados.

1.5.2 Etnicidade e Epidemiologia Relacionada à Família GST

As enzimas da família glutathione S-transferase participam da segunda fase do biometabolismo de xenobióticos, a detoxificação. O gene *GSTM1* pertence à classe *mu*, gene *GSTT1* à classe *theta* e o gene *GSTP1* à classe *pi* dos genes que codificam as GSTs (AUTRUP, 2000).

As glutathione-S transferases desempenham um papel predominante no metabolismo celular, bem como na modificação de compostos eletrofílicos reativos, tanto pela conjugação com as glutathionas, como também por ligação não covalente

com vários agentes xenobióticos, incluindo carcinógenos e drogas citotóxicas, como os PAHs presentes na dieta alimentar e na fumaça dos cigarros, impedindo a ligação destes ao DNA (VAN POPPEL *et al.*, 1992; BROCKMÖLLER *et al.*, 1993; STRANGE e FRYER, 1999).

1.5.2.1 *GSTM1* e *GSTT1*

Considerando os genes que codificam enzimas que atuam na segunda fase do biometabolismo, os genes *GSTM1* e *GSTT1* são os mais estudados, principalmente em relação à suscetibilidade a diversos tipos de câncer na população Européia e Euro-descendente.

Diversos trabalhos têm avaliado a associação da deleção desses genes com câncer de pulmão. TAIOLI *et al.* (2003) e HUNG *et al.* (2003) avaliaram amostras de indivíduos Euro-descendentes e não encontraram associação com a variante *GSTM1*0*, um pequeno risco foi encontrado no primeiro trabalho com a variante *GSTT1*0*. RAIMONDI *et al.* (2005) em meta-análise também encontraram associação desta variante com câncer de pulmão em grande parte dos estudos avaliados.

GUDEMUNDSDOTTIR, TRYGGVADOTTIR e EYFJORD, (2001) avaliaram uma amostra de 500 pacientes com câncer de mama e 395 controles europeus e não encontraram associação de suscetibilidade a esta malignidade e as variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0*. Entretanto no mesmo trabalho foi encontrada associação com a variante G do gene *GSTP1* e, na análise de combinações de genótipos, encontraram uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência do genótipo *GSTT1*0* e mutações no gene *TP53*. Os autores sugerem que as variantes dos genes *GSTP1* e *GSTT1* podem ter um importante papel na carcinogênese mamária, possivelmente por influência no aumento de mutações no gene supressor tumoral *TP53*. MITRUNEN *et al.* (2001) também sugerem associação dessas variantes e a suscetibilidade ao câncer de mama, entretanto BAILEY *et al.* (1998) e MILLIKAN *et al.* (2000) não encontraram associações. Sendo assim, a influência das variantes dos genes da família Glutathione S-transferase no câncer de mama permanece controversa.

Estudos de associação entre essas variantes e a suscetibilidade ao câncer de cabeça e pescoço também têm sido realizados em populações Euro-descendentes (TRINZA et al., 1995; JOURENKOVA et al., 1998; CHENG et al., 1999; NAZAR-STEWART et al., 1999; OLSHAN et al., 2000; PARK, et al., 2000; GEISLER e OLSHAN, 2001; GAJECKA et al., 2005). A associação das variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0* com carcinoma de células escamosas de laringe não foi encontrada no trabalho de GAJECKA et al. (2005) que avaliou uma amostra da população Polonesa. Os autores sugerem que os dados referentes a essas variantes e o câncer de cabeça e pescoço ainda são inconsistentes, pois vários trabalhos encontraram associações positivas (TRINZA et al., 1995; JOURENKOVA et al., 1998; CHENG et al., 1999; NAZAR-STEWART et al., 1999), enquanto outros trabalhos não encontraram associação (OLSHAN et al., 2000; TAN et al., 2000).

Outras neoplasias foram avaliadas para associação com essas variantes e o aumento da suscetibilidade, como câncer de bexiga (THIER et al., 2003), carcinoma de células renais (LONGUEMAUX et al., 1999), além de doenças como a anemia aplástica (DUFOUR et al., 2005). Dentre esses trabalhos somente a associação entre a variante *GSTM1*0* e o câncer de bexiga parece estar bem estabelecida. Também foram encontradas associações com cânceres de estômago e pele. Uma alta frequência de indivíduos com homozigose de alelos nulos para *GSTT1*, foi encontrada entre pacientes com síndromes mielodisplásicas e uma influência, ainda pouco clara, tem sido descrita em câncer de cólon de desenvolvimento precoce (ARRUDA et al., 1998).

Com relação às populações Africanas e Afro-descendentes, vários autores descreveram forte associação entre indivíduos fumantes portadores de *GSTM1*0* e *GSTT1*0* e câncer de pulmão (KELSEY., 1997; FORD et al., 2000; MOHR, RODGERS e SILVESTRI, 2003; COTE et al., 2005).

Estes polimorfismos também têm sido avaliados com relação à associação com câncer de cabeça e pescoço (OLSHAN et al., 2000; PARK et al., 2000; GEISLER e OLSHAN, 2001). PARK et al. (2000) estudaram 63 pacientes com câncer de cavidade bucal e 133 controles Afro-americanos e encontraram uma associação entre esse tipo de neoplasia e o genótipo *GSTM1*0*. Também foi estudada a variante do intron 6 do gene *GSTM3* que, quando combinado com *GSTM1*0*, mostrou associação com câncer de cavidade bucal.

A associação de variantes dos genes *GSTM1* e *GSTT1* não foi observada em estudos caso-controle realizados em pacientes Afro-descendentes com câncer de mama, entretanto, os autores sugerem que mais estudos são necessários com amostras maiores para resultados mais consistentes (BAILEY et al., 1998; MILLIKAN et al., 2000).

HUANG et al. (2006) avaliaram a associação das variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0* em indivíduos fumantes com câncer de cólon e indivíduos controles, separados em Euro-descendentes e Afro-descendentes, pertencentes à população da Carolina do Norte (EUA). Os autores encontraram um pequeno aumento no risco de câncer de cólon em indivíduos *GSTM1*0* (Afro-descendentes, OR=1,43, IC, 0,98-2,09; e Euro-descendentes, OR=1,19, IC, 0,90-1,58) e uma redução no risco de câncer de cólon em indivíduos *GSTT1*0* (Afro-descendentes, OR=0,59, IC: 0,40-0,86; e Euro-descendentes, OR=0,72, IC: 0,53-1,00). Os pesquisadores concluíram haver uma fraca interação entre a presença das variantes nulas para estes genes e a predisposição ao câncer de cólon, aumentada pelo hábito tabagista e variável entre diferentes etnias.

DANDARA et al. (2002) estudaram três amostras de populações Africanas e encontraram uma frequência de *GSTM1*0* de aproximadamente 33% e de *GSTT1*0* de aproximadamente 25%. Segundo GEISLER e OLSHAN (2001), trabalhos realizados em amostras de populações de hospitais e caso-controle nos EUA, mostraram uma frequência de 23 a 41% de *GSTM1*0* em população Afro-descendente, 32 a 53% em população descendente de asiáticos, 40 a 53% em população latino-americana e 35 a 62% em população Euro-descendente. Para o genótipo *GSTT1*0* os trabalhos nos EUA mostraram uma frequência de 22 a 29% entre Afro-descendentes e 10 a 12 % entre os Hispano-descendentes. Estudos europeus mostraram a presença do genótipo nulo do gene *GSTT1* em 21% dos italianos e 28% dos eslovacos.

As frequências das variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0* também foram estudadas em diversas populações saudáveis a fim de obter dados mais consistentes para a comparação com grupos especiais como pacientes em estudos caso-controles. GARTE et al. (2001), em meta-análise, avaliaram 50 estudos, totalizando 10.514 indivíduos Europeus e Euro-descendentes, para a variante *GSTM1*0* e encontraram frequência média de 53,1% em 29 estudos, totalizando 5.577 indivíduos Europeus e

Euro-descendentes, para a variante *GSTT1*0* e encontraram frequência média de 19,7%. Outras populações também foram avaliadas: a frequência média de *GSTM1*0* encontrada entre Africanos foi 26,7% (n=479) e entre Asiáticos foi 52,9% (n=1.511); e para a variante *GSTT1*0* entre Asiáticos foi 47% (n=575).

Vários estudos foram realizados em amostras de populações Brasileiras para as variantes desses genes. ARRUDA et al. (1998) analisaram 79 indivíduos Ameríndios da Amazônia de uma tribo Tupi, 117 indivíduos Afro-descendentes da Bahia com idade entre 42 e 60 anos e 130 indivíduos Euro-descendentes. Os autores encontraram as frequências de *GSTM1*0* de 20% (Ameríndios), 33% (Afro-descendentes) e 55% (Euro-descendentes); e as frequências *GSTT1*0* de 11% (Ameríndios), 19% (Afro-descendentes) e 18,5% (Euro-descendentes).

GATTÁS e SOARES VIEIRA (2000) avaliaram uma amostra de 206 Euro-brasileiros e 86 Afro-brasileiros saudáveis e encontraram a frequência de 60,2% da variante *GSTM1*0* entre os Euro-brasileiros e de 41,9% entre os Afro-brasileiros. Em outro trabalho, os mesmos autores analisaram amostras coletadas na cidade de São Paulo e coletadas na área rural do estado da Bahia. Os autores classificaram os indivíduos como brancos, mulatos claros, mulatos escuros e negros. As frequências de *GSTM1*0* foram 55,6%, 40,4%, 32% e 28,6%, respectivamente. Para o genótipo *GSTT1*0* as frequências entre indivíduos classificados como brancos e indivíduos não brancos não mostraram uma diferença estatisticamente significativa: 26,3% para negros de São Paulo, 23,8% para negros da Bahia, 23,8% para brancos e 17,2% para mulatos. Os autores também chamaram atenção para o fato de que qualquer informação sobre raça, cor de pele ou etnicidade deve ser considerada com precaução no Brasil e que os dados coletados, assim como a interpretação destas informações, devem ser avaliados dentro de um quadro sócio-cultural apropriado (GATTÁS et al., 2004).

Um quarto estudo realizado com uma amostra de 658 indivíduos Afro-descendentes e Euro-descendentes saudáveis da cidade do Rio de Janeiro encontrou uma diferença estatística significativa entre os grupos para as variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0*. Com relação à genotipagem de *GSTM1*, nenhum dos dois grupos apresentou-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, principalmente pelo excesso de indivíduos heterozigotos (*GSTM1*AB*) (HATAGIMA et al., 2004).

Com relação a outras populações, YANG et al. (2005) avaliaram 12 estudos de *GSTM1*0* e 6 estudos de *GSTT1*0* de associação com câncer de esôfago na população Asiática (japoneses e chineses). A meta-análise não encontrou associação da malignidade com nenhuma das variantes e as frequências alélicas médias encontradas entre os controles foram 49,6% de *GSTM1*0* e 37,7% de *GSTT1*0*.

Ainda com relação a população Asiática, outros estudos também têm descrito altas frequências das deleções desses genes, com uma variação de 62 a 100% para *GSTM1*0* em grupos das Ilhas do Pacífico e da Malásia, de 51% para chineses e 56% para coreanos. A frequência de *GSTT1*0* também é alta entre os asiáticos: 58% para chineses e 46% para coreanos (GEISLER e OLSHAN, 2001).

GASPAR et al. (2002b) estudaram essas variantes em sete populações de Ameríndios e encontraram frequências bastante diferentes. Os dados desse trabalho estão resumidos e apresentados no Apêndice 8.

No Apêndice 4 estão reunidos os dados presentes na literatura referentes às frequências das variantes *GSTM1*0* e *GSTT1*0* nos três principais grupos estudados.

1.5.2.2 *GSTP1*

Devido ao envolvimento do gene *GSTP1* em vias metabólicas que envolvem xenobióticos ambientais e também hormônios importantes para a regulação da proliferação celular como o estrogênio, vários estudos têm avaliado a associação de variantes deste gene com diversos tipos de neoplasias.

Entretanto, a associação de variantes do gene *GSTP1* com doenças malignas ainda é controversa. Estudos do tipo caso-controle mostram resultados contraditórios. Segundo HELZLSOUER et al. (1998) e GUDMUNDSDOTTIR, TRYGGVADOTTIR e EYFJORD (2001) existe associação entre a variação deste gene e neoplasias mamárias, mas segundo estudo feito por MILLIKAN et al. (2000), com mulheres Afro-descendentes da Carolina do Norte, não há associação entre o polimorfismo e o processo carcinogênico. MITRUNEN et al. (2001) avaliaram uma amostra de 485 pacientes com neoplasia mamária e 482 controles da população

Finlandesa e encontraram associação entre a malignidade e a presença de variantes dos genes *GSTP1*, *GSTM1*, *GSTM3* e *GSTT1*, principalmente quando combinadas.

O polimorfismo do gene *GSTP1* também tem sido avaliado quanto à sua ação em pacientes que foram submetidos a tratamento quimioterápico. SWEENEY *et al.* (2000) estudaram mulheres homozigotas para a variante gênica *GSTP1 Val* (com baixa atividade específica de detoxificação de agentes alquilantes) e verificaram maior sobrevida dessas pacientes depois da quimioterapia para câncer de mama.

A hipermetilação do gene *GSTP1* tem sido associada ao câncer de próstata em pacientes Afro-descendentes dos EUA. Dois estudos encontraram um grau de associação duas vezes maior entre indivíduos Afro-descendentes do que entre indivíduos Euro-descendentes (WOODSON *et al.*, 2003; ENOKIDA *et al.*, 2005). Variantes do gene *GSTP1* também foram associadas ao câncer de pulmão em um estudo com pacientes Afro-descendentes. COTE *et al.* (2005) avaliaram a influência dos genótipos mutantes dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* em pacientes com câncer de pulmão, mostrando uma frequência duas vezes maior do alelo mutante G do gene *GSTP1* em pacientes do que nos controles. Com relação aos outros genes foi encontrado um aumento na suscetibilidade em pacientes com combinações dos possíveis genótipos de risco em Afro-descendentes, porém nenhuma associação foi encontrada com os genótipos isolados e nenhuma associação foi encontrada para o grupo Euro-descendente avaliado. Os autores também ressaltam que uma associação de genótipos de risco desses genes pode estar conferindo um risco maior para a carcinogênese de neoplasias de pulmão.

A associação de variantes do gene *GSTP1* não foi encontrada em estudo caso-controle com amostra Euro-descendente com relação ao câncer de cabeça e pescoço (OLSHAN *et al.*, 2000). Outro estudo caso-controle avaliou a população do Sul do Brasil com câncer de cavidade bucal e também não encontrou associação com essas variantes (LEICHSENDRING *et al.*, 2006), entretanto um estudo constatou uma forte associação destas variantes em pacientes com câncer de cavidade bucal em uma amostra de pacientes Afro-descendentes norte-americanos (PARK *et al.*, 2000).

DANDARA *et al.* (2002) avaliaram três amostras de populações africanas e encontraram uma frequência de aproximadamente 15% do alelo mutante *Val105*

para o gene *GSTP1*. Neste estudo, os autores não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre as freqüências das três populações analisadas.

As freqüências das variantes do gene *GSTP1* também foram avaliadas na população brasileira. ROSSINI et al. (2002) avaliaram os genótipos nulos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* e a variante *GSTP1*B(Val)* em 591 indivíduos residentes da cidade do Rio de Janeiro. A amostra foi dividida em 319 indivíduos brancos e 272 indivíduos denominados não-brancos que foram classificados como negros (n=132) e mulatos (n=140). As freqüências descritas para o grupo de brancos foram: 48,9% de *GSTM1*0*, 25,1% de *GSTT1*0* e 31,5% de *GSTP1*B(Val)*. E as freqüências descritas para o grupo de não-brancos foram: 34,2% de *GSTM1*0*, 27,5% de *GSTT1*0* e 30,9% de *GSTP1*B(Val)*. Segundo os autores as freqüências do polimorfismo para os genes *GSTs* estudados foram diferentes das encontradas em outras populações, particularmente de outros países ocidentais.

Outro estudo que avaliou as freqüências das variantes de *GSTP1* na população brasileira também estudou as variantes dos genes *CYP1A1*, *GSTM1* e *GSTT1*. KVIK et al. (2006) compararam uma amostra Afro-descendente da população da cidade de Porto Alegre (RS) com uma amostra Euro-descendente previamente estudada para esses genes e descreveram os seguintes resultados: para a amostra Afro-descendente a freqüência de *CYP1A1*2A* foi 30%, de *GSTP1*B* foi 42% e, quanto aos genótipos nulos, as freqüências foram 34% de *GSTM1*0* e 28% de *GSTT1*0*. As distribuições alélicas e genotípicas tiveram diferenças significantes entre as duas amostras avaliadas para as variantes *CYP1A1*2A* (p=0,003), *GSTP1*B* (p=0,002) e *GSTM1*0* (p=0,001), mas não para a variante *GSTT1*0*.

Com relação a outras populações, o gene *GSTP1* foi pouco estudado. YANG et al. (2005), em meta-análise, encontrou a freqüência média de 15,5% da variante *GSTP1*B* entre amostras de controles de estudos de associação com câncer de esôfago na população asiática (japoneses e chineses). KIM, JOHNSON e DERENDORF (2004), em estudo caso-controle com 171 pacientes coreanas com câncer de mama e 171 controles, encontraram associação entre a variante *GSTP1*B* e o aumento da suscetibilidade a esta malignidade. A freqüência encontrada entre os controles foi 18,7%.

No Apêndice 5 estão reunidos os dados presentes na literatura referentes às frequências da variante *GSTP1*B* nos três principais grupos estudados. Os dados referentes às frequências alélicas e genotípicas das variantes dos genes do biometabolismo estudados na população brasileira estão reunidos nos Apêndices 6 e 7.

GARTE et al. (2001) destacam a importância dos estudos com genes do biometabolismo em amostras cada vez mais representativas dos vários grupos étnicos das populações humanas, pois desta maneira será possível o melhor entendimento do envolvimento desses genes nas diversas doenças induzidas ambientalmente como o câncer.

2 JUSTIFICATIVA

O estudo de amostras de dois diferentes grupos (Euro-descendentes e Afro-descendentes) nos dará informações relevantes sobre a dinâmica gênica na população do Sul do Brasil e estrutura genética da população brasileira, caracterizada por significativa miscigenação étnica, comparada com outras populações mundiais estudadas para esses marcadores.

Os genes do biometabolismo têm sido associados a diversas doenças induzidas ambientalmente. O conhecimento das freqüências de seus polimorfismos em populações de diferentes grupos étnicos é de grande interesse por servir de base para estudos epidemiológicos populacionais e futuras ações de prevenção em nível sócio-populacional.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros populacionais em duas amostras compostas por indivíduos Euro-descendentes e Afro-descendentes do Sul do Brasil.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar as frequências de variantes dos genes do biometabolismo *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* nas amostras descritas acima.
- 2) Comparar as frequências das variantes encontradas com as descritas na literatura.
- 3) Estimar parâmetros populacionais, como: equilíbrio de Hardy-Weinberg, diferenciação genética e diversidade gênica entre os genes avaliados nas amostras descritas acima.
- 4) Estimar as contribuições de Europeus, Africanos e Ameríndios na formação das amostras descritas acima para cada marcador avaliado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A amostra da população Euro-descendente do Sul do Brasil é constituída por 115 indivíduos saudáveis, 49 do sexo masculino e 66 do sexo feminino, com idade média de $42,64 \pm 7,32$ anos.

A amostra da população Afro-descendente do Sul do Brasil é constituída por 196 indivíduos saudáveis, 123 do sexo masculino e 73 do sexo feminino, com idade média de $33,45 \pm 8,62$ anos.

A diferenciação étnica foi feita através de questionário com identificação pelos próprios indivíduos. Anexo ao questionário incluiu-se o Consentimento Informado (Anexo).

As coletas das amostras foram feitas nas unidades do HEMEPAR pela equipe do LIGH, no período de 1995 a 2005 para a amostra de Afro-descendentes e no primeiro semestre de 2001 para a amostra de Euro-descendentes; e entre professores e alunos da UFPR no Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética do Departamento de Genética da UFPR.

4.2 PROCEDIMENTOS

4.2.1 Coleta de Sangue Periférico e Extração de DNA Genômico

A coleta de sangue foi realizada pela equipe do LIGH nas dependências do HEMEPAR e o preparo para a extração seguiu os seguintes procedimentos: Centrifugou-se 5 ml de sangue de cada indivíduo a 2.000 rpm por 20 minutos, o que resultou na separação do sangue em três fases: a fase superior contendo o plasma, a fase intermediária contendo os leucócitos e a fase inferior contendo os eritrócitos. A fase intermediária foi retirada e colocada em um tubo de microcentrífuga no qual foram adicionados 700 μ L de RCLB 1X concentrado (diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada: 12,1 g de TRIS, 10,2 g de $MgCl_2$, 5,8 g de NaCl e água ultra-pura para completar o volume de 1.000 ml) e centrifugado a 13.000 rpm por 2 minutos. Este procedimento foi repetido de 3 a 4 vezes

descartando-se o sobrenadante e utilizando-se 1 ml de Tampão de Lise RCLB. Após o último descarte do sobrenadante adicionou-se 1 ml de água ultra-pura e misturou-se o material utilizando-se uma micropipeta. Centrifugou-se a 13.000 rpm por 2 minutos e descartou-se o sobrenadante. Adicionou-se 80 µl de tampão proteinase K 5X, 40 µl de proteinase K, 20 µl de SDS 20% e 240 µl de água ultra-pura. O DNA genômico foi extraído utilizando-se o método *salting out* segundo BIGNON e FERNANDEZ-VIÑA (1997), com modificações. Ao final do procedimento, a amostra foi ressuspensa em 50 µl de água ultra-pura e armazenada a -20° C.

4.2.2 Amplificação por PCR Alelo-específico e PCR-RFLP

A PCR é uma técnica que possibilita a síntese enzimática “*in vitro*” de várias cópias de um segmento específico de DNA na presença da enzima DNA polimerase. Esta reação se baseia no pareamento e extensão enzimática de um par de oligonucleotídeos (moléculas de DNA fita simples), usados como iniciadores que delimitam a seqüência de DNA de fita dupla, alvo da amplificação. Estes iniciadores são sintetizados artificialmente, de maneira que suas seqüências de nucleotídeos são complementares às seqüências específicas que flanqueiam a região alvo. Um ciclo de PCR envolve três etapas: desnaturação, pareamento e extensão. A desnaturação consiste na separação das fitas duplas de DNA, através de elevação da temperatura para 92° a 95° C. Na etapa de pareamento, a temperatura é rapidamente reduzida para cerca de 55° C, dependendo do tamanho e da seqüência do iniciador utilizado, o que irá permitir a hibridação DNA-DNA de cada iniciador com as seqüências complementares que flanqueiam a região alvo. Em seguida, a temperatura é elevada para 72° C para que a enzima DNA polimerase atue na extensão, adicionando nucleotídeos, utilizando como molde a seqüência - alvo, de maneira que se realize uma cópia dessa seqüência (FERREIRA e GATTAPAGLIA, 1998).

4.2.2.1 Análise do Gene *CYP1A1* para Variante *2A por PCR-RFLP

Esta variante resulta da presença (CCGG) ou ausência (CTGG) do sítio de restrição *MspI* na posição 6235 da molécula de DNA pela transição de timina para citosina (GOTO et al., 1996; FONTANA et al., 1998).

Os iniciadores C44 e C47 originam um produto de amplificação de 340 pb que caracterizam o homozigoto selvagem *CYP1A1*2A/2A*, o qual não sofre ação da enzima de restrição *MspI*, resultando numa banda não clivada. O genótipo homozigoto mutante *CYP1A1*2B/2B* possui sítio para a enzima de restrição *MspI*, que cliva o produto de amplificação, gerando duas bandas de 200 pb e 140 pb e o genótipo *CYP1A1*2A/2B* corresponde às três bandas de 340, 200 e 140 pb (Figura 4) (CARSTENSEN et al., 1993).

A PCR foi realizada utilizando os iniciadores e a programação dos ciclos da reação apresentados na Tabela 3, e baseada no protocolo de CARSTENSEN et al. (1993) modificado:

5,0 µl de tampão de PCR 10X: 200 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 500 mM de HCl 10X concentrado;

2,0 µl (50 mM) de MgCl₂;

0,3 µl (25 mM) de dNTP's;

0,3 µl (20 pmol) de cada iniciador;

5 U de Taq DNA polimerase;

2,0 µl de DNA genômico total;

Água ultra-pura estéril para completar o volume final de 50 µl.

Reação de clivagem com a enzima *MspI*:

16 µl da reação de PCR;

0,2 µl (2 U) de enzima de restrição *MspI*;

1,4 µl de tampão da enzima: 50 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 10 mM de MgCl₂, 10X concentrado;

2,3 µl de água ultra-pura estéril;

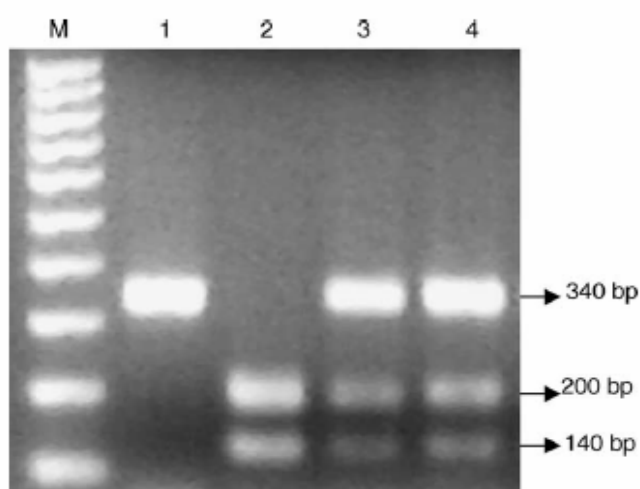
A reação permaneceu a 37° C por cerca de 14 horas.

Os fragmentos amplificados e clivados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 3,0% (3,0 g de Agarose diluída em tampão TBE 1X concentrado,

diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada) e corado com brometo de etídeo (concentração de 10mg/ml) e 4 µl de tampão (15 ml de ficol, 20 ml de H₂O e 0,0125 g de azul de bromofenol).

Para identificação do peso molecular de cada banda foi utilizado um marcador de 50 pb diluído (10 µl de marcador de DNA, 10 µl de ficol e 80 µl de água ultra-pura). Os géis foram observados em transiluminador de luz ultra-violeta e documentados em sistema de captação de imagens pelo software “*Digi Doc It*”.

FIGURA 4 – PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE *CYP1A1* EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO



Coluna M: marcador de peso molecular de 50pb; Coluna 1: Homozigoto selvagem (*CYP1A1**2A/2A); Coluna 2: Homozigoto mutante (*CYP1A1**2B/2B); Colunas 3 e 4: Heterozigoto (*CYP1A1**2A/2B)

4.2.2.2 Análise do Gene *CYP2D6* para Variante *4 por PCR-RFLP

A variante foi identificada pela técnica da PCR-RFLP, através da perda do sítio de restrição *Bst*N1 pela mudança de base G – A na posição 1934 da molécula de DNA.

O genótipo homozigoto selvagem (A1/A1) possui sítio para a enzima de restrição *Bst*N1 que cliva o produto de amplificação, gerando duas bandas de 230 e 104pb. O genótipo homozigoto mutante (A2/A2) não sofre ação da enzima de restrição originando uma banda não clivada de 334pb, e o genótipo heterozigoto (A1/A2) corresponde às três bandas de 230, 104 e 334pb (Figura 5).

Os iniciadores utilizados para a PCR, assim como os ciclos da reação estão ilustrados na Tabela 3. A PCR foi realizada baseada no protocolo de SOBTIA et al. (2005) modificado:

5,0 µl de tampão de PCR 10X: 200 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 500 mM de HCl 10X concentrado;

1,5 µl (1,5 mM) MgCl₂;

2,0 µl (20 µM) de dNTPs;

2,0 µl (20 pmol) de cada iniciador;

2,5 U de Taq polimerase;

Água ultra-pura para completar o volume de 50 µl.

Reação de clivagem com a enzima *Bst*N1:

10 µl de produto de PCR;

2,0 µl de tampão da enzima: 50 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 10 mM de MgCl₂, 10X concentrado;

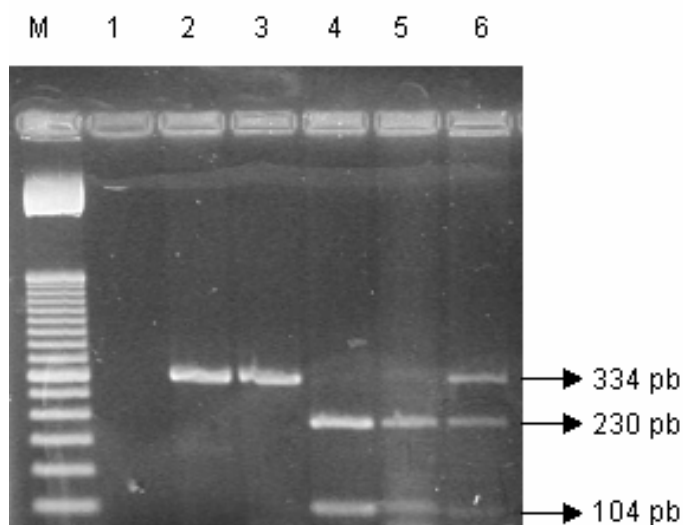
0,2 µl de BSA da enzima;

2 U da enzima *Bst*N1.

A reação foi incubada a 60° C por 3 horas.

Os fragmentos amplificados e clivados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 2,5 % (2,5 g de Agarose diluída em tampão TBE 1X concentrado, diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada) e corado com brometo de etídeo (concentração de 10mg/ml) e 4 µl de tampão (15 ml de ficol, 20 ml de H₂O e 0,0125 g de azul de bromofenol). A identificação seguiu o mesmo procedimento do item 4.2.2.1.

FIGURA 5 - PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE *CYP2D6* EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO



Coluna M: marcador de peso molecular de 50pb; Coluna 1: controle negativo; Colunas 2 e 3: Homozigoto mutante (*CYP2D6**4/4); Colunas 4 e 5: Homozigoto selvagem (*CYP2D6**1A/1A); Coluna 6: Heterozigoto (*CYP2D6**1A/4)

4.2.2.3 Análise do Gene *CYP2E1* para Variante *5B por PCR-RFLP

Esta variante ocorre devido a uma substituição de base na região regulatória do gene *CYP2E1*, que gera um sítio de restrição para a enzima *Pst*I. A amplificação por PCR gera um fragmento de 410 pb. Após a reação de restrição, indivíduos que possuem a mutação apresentam esse fragmento clivado em dois de 290 e 120 pb, respectivamente (Figura 6) (GATTÁS e SOARES-VIEIRA, 2000). Os iniciadores e a programação dos ciclos da reação estão apresentados na Tabela 3.

A reação foi baseada no protocolo de KATO et al. (1992) modificado, nas seguintes condições:

5,0 µl de tampão de PCR 10X: 200 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 500 mM de HCl 10X concentrado;

1,5 µl (1,5 mM) de $MgCl_2$;

0,5 µl (20 mM) de dNTPs;

1,0 µl (25 pmol) de cada iniciador;

2,5 U de Taq polimerase;

4 µl de DNA genômico total;

Água ultra-pura para completar o volume de 50 μ l;

Reação de clivagem pela enzima *Pst*I:

10 μ l do produto de PCR;

0,3 μ l (3 U) de *Pst*I;

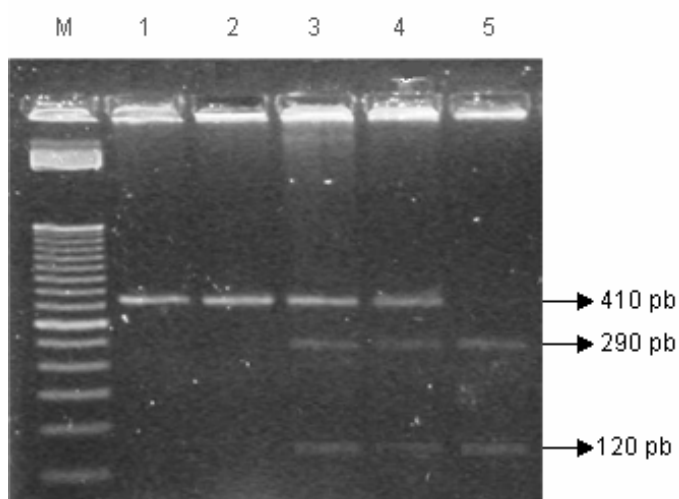
2,0 μ l de tampão: 50 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 10 mM de MgCl₂, 10X concentrado.

7,7 μ l de água ultra-pura estéril.

A reação permaneceu a 37° C por cerca de 14 horas.

Os fragmentos amplificados e clivados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 2,5 % (2,5 g de Agarose diluída em tampão TBE 1X concentrado, diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada) e corado com brometo de etídeo (concentração de 10mg/ml) e 4 μ l de tampão (15 ml de ficol, 20 ml de H₂O e 0,0125 g de azul de bromofenol). A identificação seguiu o mesmo procedimento do item 4.2.2.1.

FIGURA 6 – PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE *CYP2E1* EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO



Coluna M – Marcador de Peso Molecular 50pb; Coluna 1 e 2 – Homozigoto selvagem (*CYP2E1**1A/1A); Coluna 3 e 4 – Heterozigoto (*CYP2E1**1A/5B); Coluna 5 – Homozigoto selvagem (*CYP2E1**5B/5B).

4.2.2.4 Análise dos Genes *GSTM1* e *GSTT1* para Variantes *0 por PCR Multiplex

A sequência de cada iniciador e as condições de amplificação estão descritas na Tabela 3. Os iniciadores para o gene *CYP1A1* amplificam um fragmento constante de 312 pb, o qual foi utilizado como controle interno da reação, excluindo a possibilidade de uma falsa interpretação dos resultados devido à ausência de amplificação. O fragmento de 215 pb foi visualizado somente nos indivíduos que possuíam o genótipo *GSTM1* *positivo*. O fragmento de 480 pb foi visualizado apenas nos indivíduos que possuíam o genótipo *GSTT1* *positivo*. A ausência da amplificação *GSTM1* (215 pb) ou *GSTT1* (480 pb), na presença de controle interno, indicou os respectivos genótipos nulos para cada gene (*GSTM1**0 e *GSTT1**0) (Figura 7).

A reação de co-amplificação em cadeia foi realizada baseada no protocolo para PCR Multiplex de ABDEL-RAHMAN et al. (1996) com modificações, nas seguintes condições:

- 2,5 µl de tampão de PCR 10X: 200 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 500 mM de HCl 10X concentrado;

- 2,0 µl (2 mM) de MgCl₂;

- 0,5 µl (2 mM) de dNTPs;

- 0,8 µl (20 pmol) de cada iniciador: *GSTM11*, *GSTM12*, *GSTT11*, *GSTT12*, *CYP1A11*, *CYP1A12*;

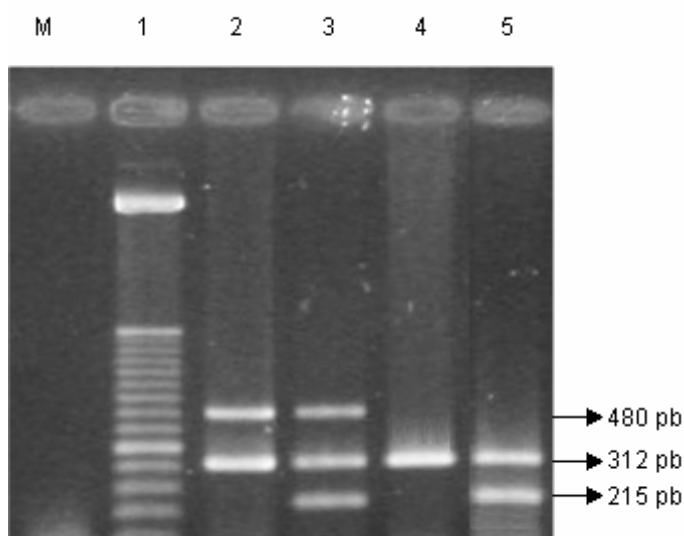
- 1,25 U de Taq DNA Polimerase;

- 8 µl de DNA genômico;

- Água ultra-pura para completar o volume de 25 µl;

Os fragmentos amplificados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 2,5 % (2,5 g de Agarose diluída em tampão TBE 1X concentrado, diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada) e corado com brometo de etídeo (concentração de 10mg/ml) e 4 µl de tampão (15 ml de ficol, 20 ml de H₂O e 0,0125 g de azul de bromofenol). O resultado foi visualizado e documentado conforme item 4.2.2.1.

FIGURA 7 – PADRÃO DE BANDAS PARA OS GENES *GSTM1* E *GSTT1* EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO



Coluna M: Controle negativo; Coluna 1: marcador de peso molecular 50 pb; Coluna 2; *GSTT1* positivo e *GSTM1* nulo; Coluna 3: *GSTT1* e *GSTM1* positivos; Coluna 4: *GSTT1* e *GSTM1* nulos; Coluna 5: *GSTT1* nulo e *GSTM1* positivo

4.2.2.5 Análise do Gene *GSTP1* para Variante *B por PCR-RFLP

A sequência de cada iniciador e as condições de amplificação estão descritas na Tabela 3. O par de iniciadores P105F e P105R permite a amplificação de um segmento de 176 pb do gene *GSTP1* que pode ou não conter o sítio de restrição para a enzima *BsmI*. Os resultados após a reação de clivagem são: um produto de 176 pb, correspondente ao genótipo homozigoto para o alelo selvagem (*GSTP1**A/A), o qual não sofre ação da enzima *BsmI*, originando uma banda não-clivada; um produto com uma banda de 91 pb e outra de 85 pb no caso de o genótipo ser homozigoto para o alelo mutante (*GSTP1**B/B). Este alelo possui um sítio para a enzima de restrição *BsmI*, que cliva o produto inicial; um produto com três bandas - uma de 176 pb, uma de 91 pb e uma de 85 pb – caso o genótipo seja heterozigoto (*GSTP1**A/B) (Figura 8).

A reação de amplificação por PCR e o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) *BsmI* no gene *GSTP1* foram obtidos de acordo com HARRIES et al. (1997), nas seguintes condições:

2,5 µl de tampão de PCR 10X: 200 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 500 mM de HCl 10X concentrado;

0,5 µl (1,5 mM) de MgCl₂;

1,0 µl (2 mM) de dNTPs;

0,75 µl (100 ng/µl) de cada iniciador;

1,25 U de Taq DNA polimerase;

2,0 µl (100 ng/µl) de DNA genômico;

Água ultra-pura para completar o volume de 50 µl;

Reação de clivagem com a enzima *BsmI*:

20 µl do produto da PCR;

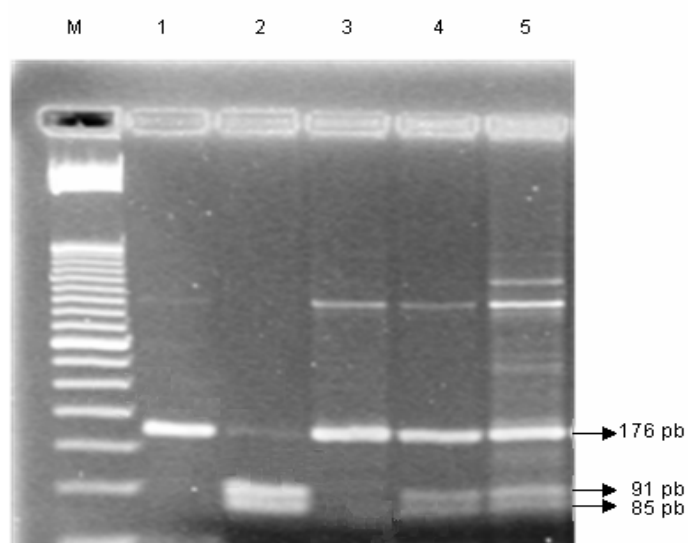
3,0 µl de tampão da enzima: 50 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 10 mM de MgCl₂, 10X concentrado;

3U da enzima *BsmI*;

A reação foi incubada a 55° C por 2 horas.

Os fragmentos amplificados e clivados foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 3,0 % (3,0 g de Agarose diluída em tampão TBE 1X concentrado, diluído 1:10, v:v da solução estoque 10X concentrada) e corado com brometo de etídeo (concentração de 10mg/ml) e 4 µl de tampão (15 ml de ficol, 20 ml de H₂O e 0,0125 g de azul de bromofenol). A identificação seguiu o mesmo procedimento do item 4.2.2.1.

FIGURA 8 – PADRÃO DE BANDAS PARA O GENE *GSTP1* EM GEL DE AGAROSE CORADO COM BROMETO DE ETÍDEO



Coluna M: Marcador de peso molecular 50 pb; Colunas 1 e 3: Homozigoto selvagem (*GSTP1**A/A); Coluna 2: Homozigoto mutante (*GSTP1**B/B); Colunas 4 e 5: Heterozigotos (*GSTP1**A/B)

TABELA 3 - INICIADORES E CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO

Gene e Tamanho dos Fragmentos	Iniciadores	Condições de Reação
CYP1A1 (<i>MspI</i>) 340, 200 e 140 pb	C44 (5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3') C47 (5'-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT-3')	94°C/5 min; 30 ciclos (94°C/20 s, 56°C/30 s, 72°C/40 s) 72°C/2 min
CYP2E1 (<i>PstI</i>) 410, 290 e 120 pb	D1 (5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3') D2 (5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3')	95°C/1 min; 25 ciclos (95°C/20 s, 55°C/30 s, 72°C/40 s) 72°C/4 min
CYP2D6 (<i>BstNI</i>) 334, 230 e 104 pb	D1 (5'-GCCTTCGCCAACCACTCCG-3') D2 (5'-AAATCCTGCTCTTCCGAGGC-3')	94°C/5 min; 30 ciclos (94°C/20 s, 56°C/30 s, 72°C/40 s) 72°C/6 min
	GSTM1: M1 (5'-GAACTGCCACTTCAGCTGTCT-3') M2 (5'-CAGCTGCATTTGGAAGTGCTC-3')	
	GSTT1: T1 (5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3') T2 (5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3')	
GSTM1 (215 pb) GSTT1 (480 pb)		95°C/5 min; 35 ciclos (94°C/2 min, 59°C/1 min, 72°C/1 min); 72°C/4 min
	CYP1A1 (controle interno): C1 (5'-GAACTGCCACTTCAGCTGTCT-3') C2 (5'-CAGCTGCATTTGGAAGTGCTC-3')	
GSTP1 (<i>BsmI</i>) 176, 91 e 85 pb	P105F (5'-ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA-3') P105R (5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT-3')	95°C/5 min; 30 ciclos (94°C/20 s, 57°C/30 s, 72°C/40 s); 72°C/5 min

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.3.1 Freqüências Alélicas e Genotípicas

As freqüências alélicas e genotípicas para as variantes dos genes *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6* e *GSTP1* foram calculadas através da opção 05 do programa GENEPOP ON THE WEB (RAYMOND e ROUSSET, 1995) com o emprego da correção de LEVENE (1949), seguindo fórmulas apresentadas por WEIR e COCKERHAM (1984). Para as variantes dos genes *GSTM1* e *GSTT1* somente as freqüências alélicas foram calculadas como descrito acima.

Os dados obtidos das variantes dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram dominantes, ou seja, a metodologia utilizada somente permitiu que os indivíduos fossem classificados como positivos ou nulos (deleção destes genes). Desta forma, freqüências genotípicas foram obtidas através da estimativa da freqüência de heterozigotos para genes autossômicos dominantes, seguindo fórmulas apresentadas por BEIGUELMAN (1994). Para a estimativa de heterozigotos foi considerado como pressuposto básico que as variantes sob estudo estivessem em equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações analisadas.

As freqüências obtidas no presente estudo foram comparadas às freqüências de outras amostras populacionais descritas na literatura através de testes do Qui-Quadrado de homogeneidade. As amostras também foram testadas quanto a distribuição das freqüências observadas em cada sexo. Ambos os testes seguiram fórmulas apresentadas por BEIGUELMAN (1988).

4.3.2 Equilíbrio de Hardy-Weinberg

A aderência das freqüências genotípicas observadas às proporções teóricas de Hardy-Weinberg (HW) foi verificada com o emprego do programa GENEPOP ON THE WEB (RAYMOND e ROUSSET, 1995). Os testes foram realizados para cada gene em cada amostra através de dois métodos: Enumeração Completa e Cadeia de Markov. Através destes métodos obtem-se um valor **p** que será considerado estatisticamente significativo quando estiver abaixo de 0,05. O programa também avalia a aderência ao equilíbrio HW para as amostras reunidas para cada gene, para

todos os genes reunidos para cada amostra e reunindo todos os genes e amostras em um mesmo teste. Estes cálculos geram valores do Qui-Quadrado através do Método de Fisher.

Para os testes, considerou-se a hipótese nula (H_0) que admite a união de gametas aleatoriamente (HALDANE, 1954).

4.3.3 Diferenciação Genética

O teste do Qui-Quadrado de homogeneidade (BEIGUELMAN, 1988) foi utilizado para comparar as frequências alélicas e genótípicas de cada gene estudado e também para comparar os dados reunidos de todos os genes avaliados.

4.3.4 Diversidade Genética

As estimativas da diversidade genética (H_s) para cada gene, por amostra e média, foram calculadas utilizando o programa FSTAT versão 2.9.3.2 (GOUDET, 1995).

4.3.5 Contribuição Genética

As proporções de miscigenação para as duas amostras estudadas foram estimadas utilizando o programa ADMIX95 desenvolvido por CHAKRABORTY (1985) modificado e adaptado para o Windows por B. BERTONI (2006) (disponível em <http://www.genetica.fmed.edu.uy/software.htm>) que utiliza o método de identificação gênica desenvolvido por CHAKRABORTY (1985). As frequências alélicas utilizadas para as populações parentais, Européias e Africanas, foram obtidas do trabalho de GARTE et al. (2001) para os genes *CYP1A1* e *GSTM1*. Para os genes *CYP2E1* e *GSTT1*, as frequências deste trabalho foram usadas somente de Europeus e Euro-descendentes. Para os demais genes dos outros grupos étnicos, as frequências das populações parentais foram obtidas através da média das frequências descritas em trabalhos da literatura, apresentadas nos Apêndices 2, 3 e 5. Para a população Ameríndia foi utilizada a frequência da tribo Guaraní descrita no trabalho de GASPAR et al. (2002b) que está resumido no Apêndice 8.

5 RESULTADOS

5.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS

Duas amostras da população do Sul do Brasil foram analisadas para seis genes envolvidos no biometabolismo de xenobióticos, três pertencentes à Família Citocromo P450 (*CYP1A1*, *CYP2D6* e *CYP2E1*) e três pertencentes à Família Glutathione S-transferase (*GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*).

A amostra de Euro-descendentes foi constituída por 115 indivíduos (49 homens e 66 mulheres) com idade média de $42,64 \pm 7,32$ anos. A diferença entre a proporção sexual dos indivíduos desta amostra não foi estatisticamente significativa ($\chi^2_1 = 2,51$; $p > 0,10$). A distribuição das frequências genotípicas entre os sexos foi testada para cada gene e para todos os genes. Ambos os testes não apresentaram diferenças estatisticamente significantes (para todos os genes: $\chi^2_{17} = 5,93$; $p > 0,95$. O valor do Qui-Quadrado para cada gene está apresentado na Tabela 4).

A amostra de Afro-descendentes foi constituída por 196 indivíduos (123 homens e 73 mulheres) com idade média de $33,45 \pm 8,62$ anos. A diferença entre a proporção sexual nos indivíduos desta amostra foi estatisticamente significativa ($\chi^2_1 = 12,76$; $p < 0,001$). As frequências genotípicas mostraram-se homogeneamente distribuídas entre os sexos (para todos os genes: $\chi^2_{17} = 9,75$; $p > 0,90$. O valor do Qui-Quadrado para cada gene está apresentado na Tabela 4).

As frequências genotípicas e alélicas das variantes estudadas nos seis genes das duas amostras analisadas são apresentadas na Tabela 5. Os Gráficos 1 e 2 apresentam a distribuição destas frequências.

TABELA 4 – RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS ENTRE OS SEXOS

Genes	Qui-Quadrado (χ^2)	G.L.	p
<i>Euro-brasileiros</i>			
<i>CYP1A1</i>	0,01	2	>0,95
<i>CYP2D6</i>	2,79	2	>0,20
<i>CYP2E1</i>	0,32	1	>0,50
<i>GSTM1</i>	0,29	1	>0,50
<i>GSTT1</i>	1,46	1	>0,20
<i>GSTP1</i>	0,38	2	>0,80
<i>Afro-brasileiros</i>			
<i>CYP1A1</i>	4,94	2	> 0,05
<i>CYP2D6</i>	0,83	2	>0,50
<i>CYP2E1</i>	1,31	2	>0,50
<i>GSTM1</i>	1,61	1	>0,20
<i>GSTT1</i>	0,14	1	>0,70
<i>GSTP1</i>	0,63	2	>0,30

TABELA 5 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DAS VARIANTES ESTUDADAS PARA OS GENES DO BIOMETABOLISMO

Genótipos	Euro-brasileiros	Afro-brasileiros
<i>CYP1A1*1A/1A</i>	0,713 (82)	0,469 (92)
<i>CYP1A1*1A/2A</i>	0,270 (31)	0,459 (90)
<i>CYP1A1*2A/2A</i>	0,017 (2)	0,072 (14)
Frequência de *2A	0,152 (115)	0,301 (196)
<i>CYP2D6*1A/1A</i>	0,597 (68)	0,745 (146)
<i>CYP2D6*1A/4</i>	0,377 (43)	0,219 (43)
<i>CYP2D6*4/4</i>	0,026 (3)	0,036 (7)
Frequência de *4	0,215 (114)	0,145 (196)
<i>CYP2E1*1A/1A</i>	0,899 (98)	0,852 (167)
<i>CYP2E1*1A/5B</i>	0,101 (11)	0,138 (27)
<i>CYP2E1*5B/5B</i>	0 (0)	0,010 (2)
Frequência de *5B	0,050 (109)	0,079 (196)
<i>GSTM1*+/+</i>	0,291 (33)	0,399 (76)
<i>GSTM1*+/-</i>	0,248 (29)	0,233 (44)
<i>GSTM1*0/0</i> (nulo)	0,461 (53)	0,368 (70)
Frequência de <i>GSTM1*0</i>	0,679 (115)	0,607 (190)
<i>GSTT1*+/+</i>	0,682 (78)	0,575 (109)
<i>GSTT1*+/-</i>	0,144 (17)	0,183 (35)
<i>GSTT1*0/0</i> (nulo)	0,174 (20)	0,242 (46)
Frequência de <i>GSTT1*0</i>	0,417 (115)	0,491 (190)
<i>GSTP1*A/A</i>	0,539 (62)	0,363 (71)
<i>GSTP1*A/B</i>	0,357 (41)	0,520 (102)
<i>GSTP1*B/B</i>	0,104 (12)	0,117 (23)
Frequência de *B	0,283 (115)	0,378 (196)

(n) – Número de indivíduos;

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DAS VARIANTES ESTUDADAS NAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS

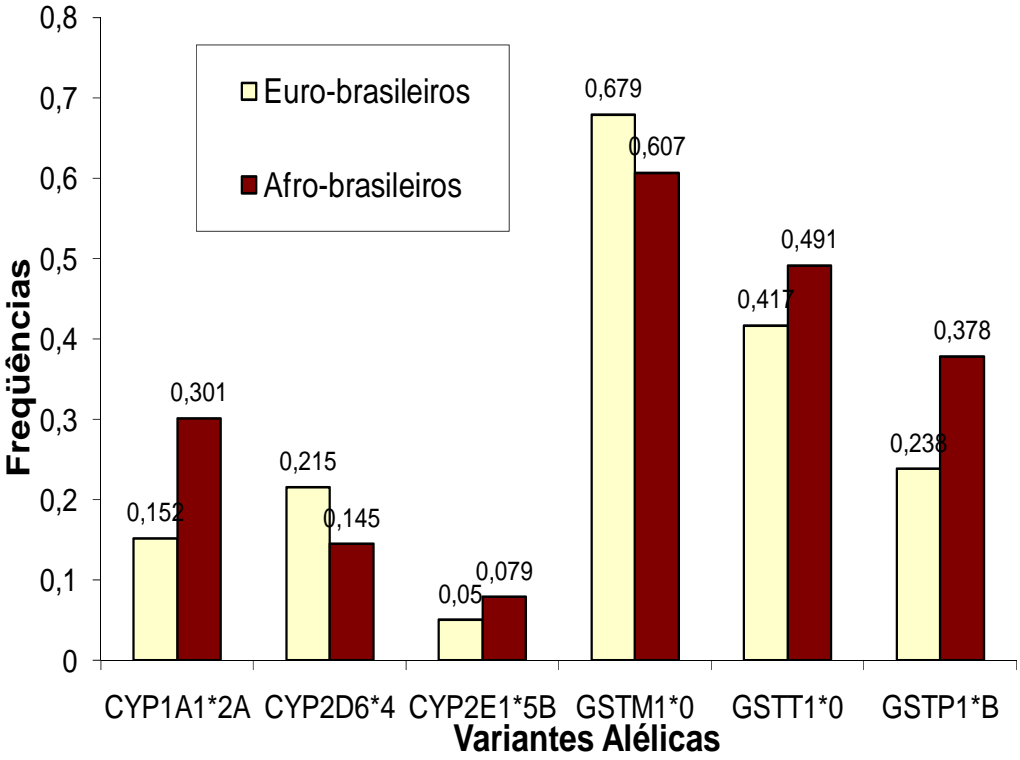
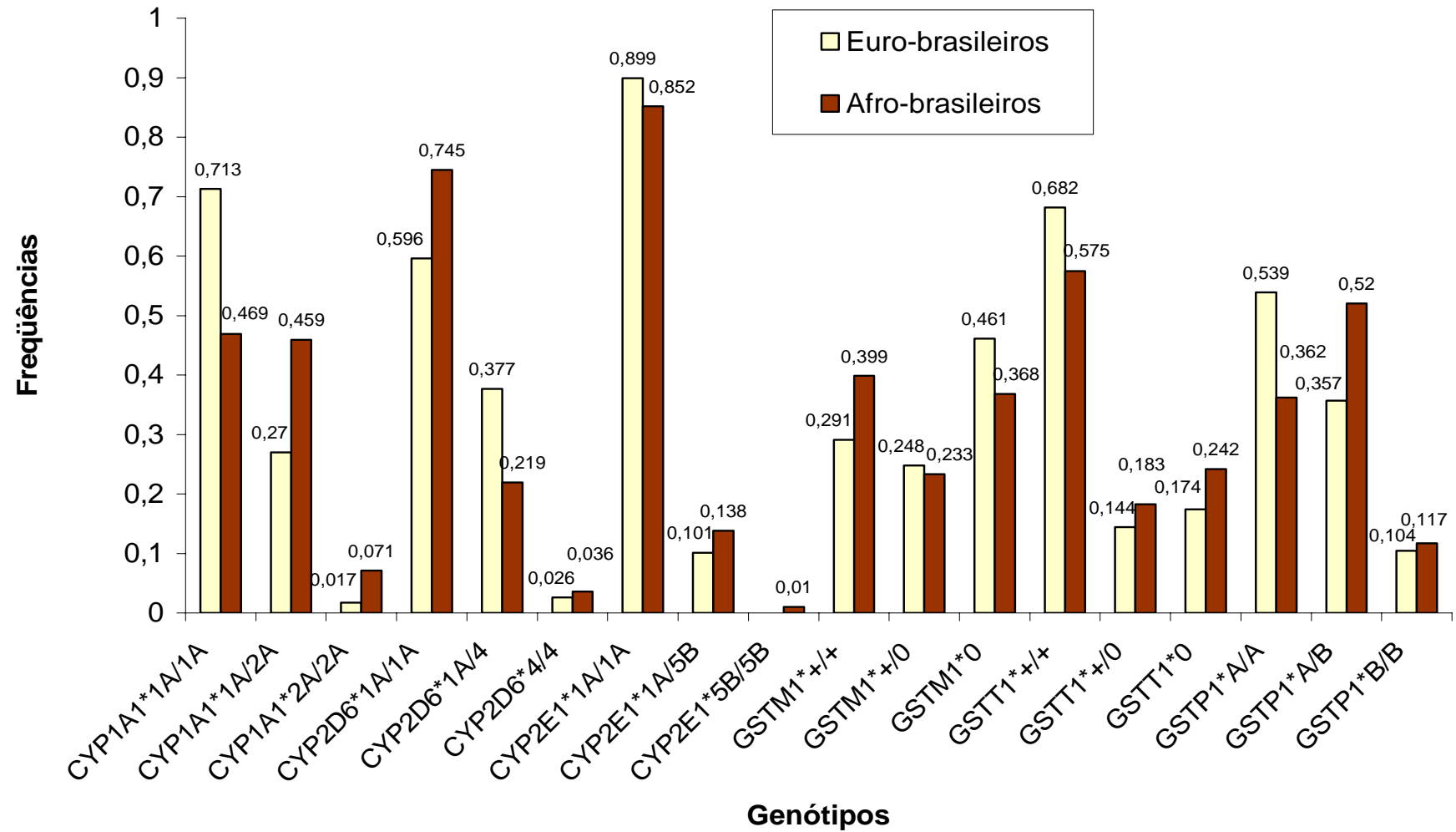


GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-DESCENDENTES



5.2 EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

As freqüências alélicas e genotípicas foram testadas para aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e apresentaram-se em equilíbrio para todos os genes analisados. Para os genes *GSTM1* e *GSTT1* a metodologia utilizada não permitiu a identificação das freqüências genotípicas dos heterozigotos e estas então foram estimadas assumindo o equilíbrio de HW como descrito anteriormente (item 4.3.1).

As freqüências dos demais genes foram avaliadas em conjunto através do Método de Fisher e também estão de acordo com equilíbrio de HW. As tabelas 6 e 7 apresentam os valores de **p** para cada gene, os valores do Qui-Quadrado, graus de liberdade e valores de **p** para cada gene com as amostras reunidas.

TABELA 6 – RESULTADO DO TESTE DO χ^2 PARA ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HW POR AMOSTRA

Genes	p	Desvio Padrão
<i>Euro-Brasileiros</i>		
<i>CYP1A1</i>	1	-
<i>CYP2D6</i>	0,2727	0,0034
<i>CYP2E1</i>	1	-
<i>GSTP1</i>	0,2489	0,0042
<i>Afro-brasileiros</i>		
<i>CYP1A1</i>	0,2374	0,0048
<i>CYP2D6</i>	0,1400	0,0025
<i>CYP2E1</i>	0,3405	0,0033
<i>GSTP1</i>	0,1727	0,0050

TABELA 7 – RESULTADO DO TESTE DO χ^2 PARA ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HW ATRAVÉS DO MÉTODO DE FISHER

Genes – Combinações	χ^2	G.L.	p
<i>CYP1A1</i> em Euro e Afro-brasileiros reunidos	2,88	4	>0,70
<i>CYP2D6</i> em Euro e Afro-brasileiros reunidos	6,53	4	>0,20
<i>CYP2E1</i> em Euro e Afro-brasileiros reunidos	2,15	4	>0,80
<i>GSTP1</i> em Euro e Afro-brasileiros reunidos	6,29	4	>0,20

5.3 DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA

Os valores do Qui-Quadrado, graus de liberdade e valores de **p** calculados para a diferenciação genética entre as frequências encontradas nas amostras estudadas (Tabela 5) estão reunidos na Tabela 8, os valores em vermelho foram estatisticamente significantes.

Dos seis genes analisados, somente o gene *CYP2E1* não apresentou diferenciação genética, tanto para a comparação das frequências alélicas como das frequências genotípicas. As frequências genotípicas para os genes *GSTM1* e *GSTT1* não foram avaliadas pois as mesmas foram estimadas e por isso poderiam não apresentar resultados consistentes se submetidas a este teste.

As frequências alélicas e genotípicas apresentadas na Tabela 5 não se apresentaram homoganeamente distribuídas entre as amostras quando estas foram avaliadas em conjunto pelo teste do Qui-Quadrado, apresentando diferenças estatisticamente significantes tanto para as frequências alélicas ($\chi^2_{11}= 111,49$; $p<0,01$) como as frequências genotípicas ($\chi^2_{17}=52,07$; $p<0,01$).

TABELA 8 – RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE PARA A DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA DAS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS

Genes	χ^2	G.L.	p
<i>Freqüências Alélicas</i>			
<i>CYP1A1</i>	17,35	1	<0,01
<i>CYP2D6</i>	4,99	1	<0,05
<i>CYP2E1</i>	1,84	1	>0,20
<i>GSTM1</i>	6,40	1	<0,05
<i>GSTT1</i>	6,31	1	<0,05
<i>GSTP1</i>	5,81	1	<0,02
<i>Freqüências Genotípicas</i>			
<i>CYP1A1</i>	18,50	2	<0,01
<i>CYP2D6</i>	8,97	2	<0,02
<i>CYP2E1</i>	2,05	2	>0,50
<i>GSTP1</i>	9,64	2	<0,01

5.4 DIVERSIDADE GENÉTICA

Os valores calculados para diversidade genética (H_s) para cada gene em cada amostra e para cada gene de todas as amostras (H_s médio) são apresentados na Tabela 9.

Os genes *GSTM1* e *GSTT1* não tiveram a diversidade genética (H_s) avaliada pois os dados obtidos no presente estudo não permitiram a identificação direta de heretozigotos que é obrigatória para a referida estimativa.

Dentre os quatro genes analisados, o gene *GSTP1* teve a maior diversidade genética, tanto na amostra de Euro-brasileiros ($H_s = 0,407$) como na amostra de Afro-brasileiros ($H_s = 0,471$), com uma diversidade média de 0,439. O gene *CYP2E1* teve os menores valores de H_s : 0,096 e 0,146 para as amostras de Euro e Afro-brasileiros, respectivamente. A diversidade genética média para *CYP2E1* foi de 0,121.

TABELA 9 – DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA (H_s) ENTRE AS AMOSTRAS DE EURO E AFRO-BRASILEIROS

Genes	Euro-brasileiros	Afro-brasileiros	H_s média
<i>CYP1A1</i>	0,259	0,422	0,341
<i>CYP2D6</i>	0,339	0,249	0,294
<i>CYP2E1</i>	0,096	0,146	0,121
<i>GSTP1</i>	0,407	0,471	0,439

5.5 COMPARAÇÕES COM OS DADOS DA LITERATURA

As freqüências genotípicas e das variantes estudadas nos seis genes das duas amostras analisadas (Tabela 5 e Gráficos 1 e 2) foram comparadas com as descritas na literatura, apresentadas nos Apêndices 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, através do Teste do Qui-Quadrado de homogeneidade. Os Apêndices 1 a 5 apresentam as freqüências encontradas na literatura para os três principais grupos estudados: Europeus e Euro-descendentes, Africanos e Afro-descendentes e Asiáticos. Nos Apêndices 6 e 7 são apresentados os dados referentes a estudos na população brasileira.

As análises foram feitas para cada gene utilizando as freqüências encontradas no presente estudo com os seguintes grupos: Africanos e Afro-descendentes, Europeus e Euro-descendentes, Afro-brasileiros e Euro-brasileiros. Para os genes *GSTM1* e *GSTT1* somente foram comparadas as freqüências alélicas pois os marcadores eram dominantes. Para os demais genes, além das freqüências alélicas, foram comparadas as freqüências genotípicas. Os valores do Qui-Quadrado, graus de liberdade e valores de **p** de todos os testes estão nas Tabelas 10 e 11, onde os valores em vermelho foram estatisticamente significantes. Observa-se, nestas tabelas, que catorze diferenças estatisticamente significantes resultaram de comparações entre dados de amostras de populações não-brasileiras e três de populações brasileiras.

As comparações entre as freqüências gênicas e genotípicas do gene *GSTP1* foram as que apresentaram o maior número de diferenças significantes (seis das catorze comparações) indicando que as mesmas não se distribuíam homogeneamente nas amostras analisadas.

As freqüências do gene *CYP2E1* foram as que apresentaram menor número de diferenças estatisticamente significantes. Somente as freqüências gênicas observadas na amostra de Afro-brasileiros não se apresentaram homogeneamente distribuídas.

TABELA 10 – RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DESCRITAS NA LITERATURA PARA POPULAÇÕES NÃO BRASILEIRAS E DAS DO PRESENTE ESTUDO

Gene Estudado e População Comparada	Genotípico	G.L.	p	Gênico	G.L.	p
<i>CYP1A1</i> Africanos e Afro-descendentes	13,97	6	<0,05	11,99	3	<0,05
<i>CYP1A1</i> Europeus e Euro-descendentes	43,88	16	<0,001	25,09	8	<0,01
<i>CYP2D6</i> Africanos e Afro-descendentes	60,86	14	<0,001	64,07	5	<0,001
<i>CYP2D6</i> Europeus e Euro-descendentes	20,10	12	>0,05	14,91	6	<0,05
<i>CYP2E1</i> Africanos e Afro-descendentes	0,16	2	>0,90	0,26	1	>0,50
<i>CYP2E1</i> Europeus e Euro-descendentes	3,06	4	>0,50	2,72	2	>0,20
<i>GSTM1</i> Africanos e Afro-descendentes	12,57	4	<0,05	-	-	-
<i>GSTM1</i> Europeus e Euro-descendentes	103,88	9	<0,001	-	-	-
<i>GSTT1</i> Africanos e Afro-descendentes	4,75	2	>0,05	-	-	-
<i>GSTT1</i> Europeus e Euro-descendentes	176,72	9	<0,001	-	-	-
<i>GSTP1</i> Africanos e Afro-descendentes	16,38	2	<0,001	14,92	1	<0,001
<i>GSTP1</i> Europeus e Euro-descendentes	79,84	16	<0,001	71,67	8	<0,001

(-) – Dados não disponíveis;

TABELA 11 – RESULTADOS DO TESTE DO χ^2 DE HOMOGENEIDADE DA DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DESCRITAS NA LITERATURA PARA POPULAÇÕES BRASILEIRAS E DAS DO PRESENTE ESTUDO

Gene Estudado e População Comparada	Genotípico	G.L.	p	Gênico	G.L.	p
<i>CYP1A1</i> Afro-brasileiros	0,08	2	>0,07	0,01	1	>0,90
<i>CYP1A1</i> Euro-brasileiros	5,76	4	>0,20	3,32	2	>0,10
<i>CYP2D6</i> Euro-brasileiros	3,66	2	>0,10	0,42	1	>0,50
<i>CYP2E1</i> Afro-brasileiros	8,97	4	>0,05	7,37	2	<0,05
<i>CYP2E1</i> Euro-brasileiros	3,02	6	>0,80	1,32	3	>0,70
<i>GSTM1</i> Afro-brasileiros	0,76	4	>0,90	-	-	-
<i>GSTM1</i> Euro-brasileiros	3,14	5	>0,90	-	-	-
<i>GSTT1</i> Afro-brasileiros	2,98	4	>0,05	-	-	-
<i>GSTT1</i> Euro-brasileiros	7,21	5	>0,20	-	-	-
<i>GSTP1</i> Afro-brasileiros	12,98	4	<0,05	9,62	2	<0,01
<i>GSTP1</i> Euro-brasileiros	4,15	6	>0,50	1,94	3	>0,50

(-) – Dados não disponíveis;

5.6 CONTRIBUIÇÃO GENÉTICA

Através da utilização do programa ADMIX95 foi estimada a contribuição genética de cada grupo formador do perfil genético da população brasileira nas amostras avaliadas. A Tabela 12 apresenta os dados referentes a esta análise. O gene *GSTP1* não foi incluído nesta análise porque não há dados disponíveis na literatura sobre as frequências das variantes deste gene na população Ameríndia.

TABELA 12 – CONTRIBUIÇÃO GENÉTICA AVALIADA NAS AMOSTRAS ESTUDADAS

População	Contribuição Genética	Desvio Padrão
<i>Euro-brasileiros</i>		
Europeus	0,747	0,21
Africanos	0,166	0,29
Ameríndios	0,087	0,08
<i>Afro-brasileiros</i>		
Europeus	0,397	0,28
Africanos	0,394	0,42
Ameríndios	0,209	0,17

6 DISCUSSÃO

O estudo da ancestralidade do indivíduo através de marcadores genéticos pode ser útil por fornecer informações, por exemplo, sobre mapeamento por mistura, predição de riscos médicos, estudos de dispersão de populações, fluxo gênico e história evolutiva. Além disso, a farmacogenética tem tido recentemente um importante desenvolvimento e as pesquisas nesta área têm demonstrado diferenças significativas, inter e intrapopulacionais, no metabolismo, eficácia e toxicidade de medicamentos (KITTLES e WEISS, 2003).

A população brasileira oferece um grande potencial de investigação, pois devido à miscigenação, a diversidade de combinações de variantes em diferentes locos possibilita o estudo de interações gênicas, que em populações homogêneas não seria possível (ZEMBRZUSKI, CALLEGARI-JAQUES e HUTZ, 2006). Os brasileiros formam uma das mais heterogêneas populações do mundo e é relevante analisar como os três grupos (Europeus, Africanos e Ameríndios) contribuíram para a formação do perfil genético da população brasileira atual (CARVALHO-SILVA et al., 2001).

Os genes do biometabolismo formam um grupo de marcadores genéticos que tem sido constantemente avaliado, principalmente em estudos do tipo caso-controle em doenças complexas como o câncer. O aumento do conhecimento sobre os fatores genéticos, que determinam a suscetibilidade humana a efeitos carcinogênicos de agentes ambientais, tem intensificado a pesquisa na área da epidemiologia molecular. A identificação de variantes genéticas com altas frequências (maiores que 1%), em genes associados ao metabolismo de carcinogênicos, tem permitido o desenvolvimento de hipóteses para explicar o alto grau de variabilidade individual na suscetibilidade ao câncer (GARTE et al., 2001).

Diferentes frequências de variantes para os genes do biometabolismo foram observadas em populações de diversos grupos étnicos como Europeus (RAUNIO et al., 1995; LONGUEMAUX et al., 1999; AUTRUP, 2000; LAFOREST et al., 2000; GARTE et al., 2001; GEISLER e OLSHAN, 2001; GUDMUNDSDOTTIR et al., 2001; MITRUNEN et al., 2001; HAHN et al., 2002; HUNG et al., 2003; TAIOLI et al., 2003; SCORDO et al., 2004; DUFOUR et al., 2005; GAJECKA et al., 2005; RAIMONDI et al., 2005; MENOYO, DEL RIO e BAIGET, 2006), Africanos (OSCARSON et al., 1997;

HUANG, SHEN e CHANG, 1999; GARTE et al., 2001; WENNERHOLM et al., 2001; DANDARA et al., 2002) e Asiáticos (GARTE et al., 2001; KANG, 2003; MIYOSHI et al., 2002; ISMAIL et al., 2003; KIM, JOHNSON e DERENDORF, 2004); YANG et al., 2005) (ver Apêndices 1 a 5). Em populações miscigenadas também se observou diferenças nas freqüências em populações como Norte-americanos (LE MARCHAND et al., 1998; FORD et al., 2000; MILLIKAN et al., 2000; OLSHAN et al., 2000; GEISLER e OLSHAN et al., 2001; WENZLAFF et al., 2005, WRENSCH et al., 2005), Hispânicos (MENDOZA et al., 2001; LOPEZ et al., 2005) e Brasileiros (ARRUDA et al., 1998; GATTÁS e SOARES VIEIRA, 2000; GASPAR et al., 2002a; ROSSINI et al., 2002; GATTÁS et al., 2004; ROSSINI et al., 2006; KVITKO et al., 2006) (ver Apêndices 6 e 7).

Com o objetivo de avaliar as freqüências de seis genes do biometabolismo (*CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*) na população do Sul do Brasil, foram estudadas neste trabalho duas amostras: uma de Euro-descendentes e outra de Afro-descendentes, constituídas por 115 e 196 indivíduos, respectivamente. A distribuição da proporção sexual para a amostra de Afro-descendentes não foi homogênea como indicou o teste do Qui-Quadrado, entretanto a distribuição genotípica das variantes estudadas foi homogênea nesta amostra assim como na amostra de Euro-descendentes que apresentou distribuição sexual dentro da proporção esperada.

Esses resultados corroboram dados de outros estudos que também não encontraram diferenças estatisticamente significantes quando compararam as freqüências encontradas para esses genes com a distribuição sexual das amostras (GARTE et al., 2001). Estes autores avaliaram diversos genes do biometabolismo em meta-análise e encontraram diferenças estatisticamente significantes para a distribuição da variante *GSTM1*0* entre homens e mulheres africanos e para a variante *GSTT1*0* entre homens e mulheres europeus. Segundo GARTE et al. (2001), essas diferenças, quando ocorrem, podem ser devido a características próprias dessas populações, como no caso acima descrito do gene *GSTT1*, em que alguns estudos foram realizados na população escandinava onde existe uma proporção dez vezes maior de homens do que de mulheres. Já o caso do gene *GSTM1* na população africana é difícil de explicar biologicamente. Um dos motivos dessa significância pode ser o tamanho amostral relativamente pequeno avaliado

nesse estudo (n=479). Os autores sugerem um aumento da amostra antes de afirmar que este fator esteja influenciando numa distribuição diferencial das freqüências.

A idade dos indivíduos também é um fator que não tem influência sobre as freqüências dos genes do biometabolismo nas diferentes populações. A ausência de associação significativa entre as freqüências alélicas e a idade, permite aos epidemiologistas excluir a possibilidade dessas variantes serem determinantes para a sobrevivência global dos indivíduos (GARTE et al., 2001).

As freqüências alélicas e genotípicas das variantes estudadas nas amostras de Euro-descendentes e Afro-descendentes estão apresentadas na Tabela 5 e nos Gráficos 1 e 2. As freqüências foram testadas com relação à aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e não apresentaram desvios estatisticamente significantes dos valores esperados, sendo que os valores de **p** e do Qui-Quadrado estão apresentados nas Tabelas 6 e 7. Estas freqüências também foram comparadas com as encontradas em diversos trabalhos da literatura (Apêndices 1, 2, 3, 4 e 5) através do teste do Qui-Quadrado de homogeneidade cujos valores estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

De maneira geral, os testes que compararam os dados das amostras brasileiras de Euro-descendentes e Afro-descendentes do presente estudo com os de amostras de trabalhos com Europeus e Africanos e Euro-descendentes e Afro-descendentes de outras populações, não apresentaram uma distribuição homogênea de suas freqüências. Os mesmos demonstram que a distribuição das freqüências descritas para esses genes nas diversas populações de mesma etnia é significativamente diferente, provavelmente devido a vários fatores como o tamanho amostral dos diversos trabalhos e classificação desses grupos, ou seja, amostras que foram classificadas como não miscigenadas podem ter um grau de miscigenação que desvie as freqüências observadas das esperadas. Além disso, as freqüências encontradas nas amostras de Euro e Afro-descendentes estudadas foram estatisticamente diferentes das encontradas nos demais grupos considerados nos testes, indicando que a população brasileira tem freqüências únicas provavelmente resultado do grau elevado de miscigenação.

Segundo GARTE et al. (2001), muitos estudos têm demonstrado que as freqüências alélicas dos genes do biometabolismo não estão distribuídas

aleatoriamente entre as populações, mas seguem padrões étnicos e/ou geográficos. Entretanto, os estudos publicados para as variantes desses genes não têm sido suficientes para determinar precisamente as reais frequências população-específicas. Além disso, ainda não foi possível determinar se outras variáveis estão associadas com essas frequências alélicas específicas.

Os testes que compararam as amostras de Euro-descendentes e Afro-descendentes do presente estudo com dados apresentados em outros estudos com a população brasileira, apresentaram-se não significantes, exceto para dois genes – *CYP2E1* e *GSTP1*.

A distribuição alélica para a variante *CYP2E1*5B* na amostra de Afro-descendentes do presente estudo e nas amostras de outros estudos brasileiros não se apresentou homogeneamente distribuída ($\chi^2_2=7,37$; $p<0,05$). O trabalho que apresentou o maior desvio no teste foi ROSSINI et al. (2006), cuja amostra não estava de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que pode ter ocasionado a significância.

Com relação aos testes que compararam as amostras do presente estudo com trabalhos de populações não-brasileiras e brasileiras, o gene *CYP2E1* apresentou somente um resultado estatisticamente significativo. Estes dados demonstram que a distribuição da variante *CYP2E1*5B* é menos variável nas diversas populações comparadas do que as variantes dos demais genes estudados, permitindo que em estudos epidemiológicos que avaliem esta variante em associação com doenças complexas possam ser feitas comparações mais precisas, como por exemplo, em estudos do tipo caso-controle. *CYP2E1* foi o marcador que apresentou menor diversidade genética em comparação aos demais avaliados nas duas amostras deste trabalho. Para os Euro-descendentes a diversidade genética (*Hs*) apresentada foi 0,096, e para a amostra de Afro-descendentes foi 0,146, com uma diversidade média (*Hs médio*) de 0,121. Isto indica que entre os genes avaliados, *CYP2E1* se apresenta em maior homozigose tanto na população Euro-brasileira como Afro-brasileira do Sul do Brasil. Segundo ROSSINI et al. (2006), a variante *CYP2E1*5B* é mais freqüente na população brasileira do que em outras populações ocidentais, mas é menos freqüente do que em Asiáticos (ver Apêndice 3) e Ameríndios (ver Apêndice 8).

O segundo gene que não apresentou uma distribuição homogênea das variantes nos trabalhos com amostras da população brasileira foi o *GSTP1* (Tabela 11). Os desvios encontrados foram elevados, em relação aos dados do presente estudo, para os dois trabalhos incluídos na análise das amostras de Afro-brasileiros (ROSSINI et al., 2002; KVITKO et al., 2006; ver Apêndice 7). Entre os motivos para esta diferença deve-se considerar o tamanho amostral e a origem geográfica das amostras utilizadas nestes trabalhos.

Com relação ao tamanho amostral, como as frequências para este gene são altas nas populações (maiores que 1%), os trabalhos de ROSSINI et al. (2002) utilizando uma amostra de voluntários residentes na cidade do Rio de Janeiro da região Sudeste brasileira, composta por 591 indivíduos e de KVITKO et al. (2006) onde analisou-se 190 indivíduos da cidade de Porto Alegre da região Sul do Brasil, avalisam que o tamanho amostral não deve ser um fator relevante para justificar os desvios observados. Com relação à origem das amostras, segundo PARRA et al. (2002), devido a extensão do território brasileiro e por diferentes grupos se movimentarem entre as diversas regiões do país, existe uma considerável heterogeneidade filogeográfica. Ao analisar o mtDNA em quatro regiões do Brasil, esses autores encontraram predominância de linhagens Ameríndias na região Norte (Amazônia), uma predominância de linhagens Africanas no Nordeste, um equilíbrio no Sudeste e uma predominância Européia na região Sul. Assim, devido a este perfil de diferentes frequências que provavelmente existe entre as diferentes regiões brasileiras para um número grande de genes, alguns podem apresentar frequências não homogêneamente distribuídas. Desse modo, ressaltamos a importância de estudos que tenham objetivo de descrever essas diferenças para uma melhor compreensão da dinâmica gênica na população brasileira.

O gene *GSTP1* apresentou a maior diversidade genética encontrada no presente estudo, na amostra de Euro-descendentes o valor de *Hs* foi 0,407 e na amostra Afro-descendente foi de 0,471, com um valor de *Hs médio* de 0,439. Nos outros estudos com população brasileira incluídos nas análises deste trabalho, a frequência de heterozigotos para o gene *GSTP1*, que é uma medida de diversidade genética, apresentou-se elevada demonstrando uma possível tendência evolutiva à heterozigose para a variante *GSTP1*B* na população brasileira, ao contrário do gene *CYP2E1*, discutido acima.

As frequências alélicas e genótípicas encontradas para os seis genes estudados nas amostras de Euro-descendentes e Afro-descendentes do presente estudo apresentaram-se estatisticamente diferentes. Os dados referentes às estas frequências, apresentados na Tabela 5, foram comparados pelo teste do Qui-Quadrado e não tiveram uma distribuição homogênea (ver item 5.3).

Com relação à diferenciação genética por gene, testada entre as amostras avaliadas, somente o gene *CYP2E1* apresentou-se homogeneamente distribuído entre as amostras (Tabela 8). GATTÁS e SOARES VIEIRA (2000) avaliaram os genes *CYP2E1* e *GSTM1* em 206 Euro-brasileiros e 86 Afro-brasileiros e também encontraram uma distribuição homogênea para as frequências do gene *CYP2E1* ($\chi^2_{1}=0,13$; $p>0,05$).

Estes dados estão de acordo com resultados encontrados para Europeus, Africanos e seus descendentes miscigenados para os genes *CYP2E1* e *GSTT1* em diversos trabalhos da literatura (ver Apêndices 3 e 4). Alguns trabalhos descreveram frequências menores em relação aos demais genes do biometabolismo, e semelhantes entre grupos étnicos para as variantes *CYP2E1*5B* e *GSTT1*0* (WU et al., 1997; MILLIKAN et al., 2000; OLSHAN et al., 2000). Entretanto, as frequências encontradas em Asiáticos são mais elevadas e semelhantes às frequências encontradas em Ameríndios para os dois genes (RAUNIO et al., 1995; GARTE et al., 2001; GASPAR et al., 2002b; THIER et al., 2003; YANG et al., 2005) (ver Apêndice 8).

O estudo de populações miscigenadas é importante para um melhor conhecimento da genética de doenças complexas. Os pré-requisitos para sua aplicação são uma compreensão das proporções de miscigenação e da dinâmica deste processo (ZEMBRZUSKI, CALLEGARI-JAQUES e HUTZ, 2006). As diferenças existentes entre os grupos étnicos humanos, considerando-se as frequências alélicas dos marcadores genéticos polimórficos, permitiram o desenvolvimento de métodos para avaliar o grau de miscigenação das populações. Os primeiros trabalhos foram realizados por BERSTEIN (1931) e OTTENSOOSER (1944) apud CULPI (1981; p.3) para populações di-híbridas. Em populações brasileiras, a partir de BIOCCA e OTTENSOOSER (1944) apud CULPI (1981; p. 3) e, outros trabalhos foram realizados utilizando-se principalmente marcadores genéticos como os grupos sanguíneos ABO, MN, Rh, secreção salivar de ABH,

haptoglobinas, hemoglobinas, transferrina, adenosina desaminase, adenilato quinase, fosfoglicomutase e glicose-6-fosfato desidrogenase (SILVA, 1948; 1949; SALDANHA, 1957; 1962a,b; OTTENSOOSER, 1962; SALZANO, 1963; TONDO et al., 1963; SALZANO et al., 1968; HUTZ, 1976; SILVA, 1979; WEIMER, 1979; FRANCO, 1980; apud CULPI, 1981; p. 3).

Os primeiros estudos sobre populações paranaenses estimando valores de mistura racial foram realizados por CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al. (1984) e CULPI e SALZANO (1984), que encontraram cerca de 50% de genes Europeus em indivíduos classificados como Afro-descendentes (n=1.000). As estimativas do componente ameríndio não foram realizadas, provavelmente pela incapacidade informativa dos marcadores utilizados, mas CULPI e SALZANO (1984) afirmaram que a contribuição dos ameríndios para a população paranaense seria pequena.

PROBST et al. (2000) avaliaram a contribuição relativa de Europeus, Africanos e Ameríndios para Euro e Afro-descendentes paranaenses, com base em dados sorológicos de HLA-A, -B e -C e encontraram uma contribuição de 79% de Europeus, 14% de Africanos e 7% de Ameríndios nos Euro-descendentes (n=492), e 49% de Europeus, 42% de Africanos e 9% de Ameríndios nos Afro-descendentes (n=103). Esse estudo demonstrou claramente a importância dos Ameríndios na formação da população paranaense. BRAUN-PRADO et al. (2000) estudaram a diversidade dos genes HLA de classe I em indivíduos Euro-descendentes (n=150) e Afro-descendentes (n=198) do Paraná e encontraram 94% de Europeus, 3% de Africanos e 3% de Ameríndios nos Euro-descendentes e 51% de Europeus, 46% de Africanos e 3% de Ameríndios nos Afro-descendentes. PROBST (2000) avaliou a diversidade dos genes HLA classe II em uma amostra de indivíduos Euro-descendentes (n=107) e numa amostra de Afro-descendentes que foi dividida em dois grupos, mulatos claros e mulatos médios denominado grupo A (n=169) e mulatos escuros e negros denominado grupo B (n=157). As amostras eram pertencentes à população paranaense. A contribuição encontrada neste trabalho foi de aproximadamente 85% de Europeus, 10% de Africanos e 5% de origem Ameríndia para a amostra de Euro-descendentes. Para a amostra de Afro-descendentes, grupos A e B, a contribuição de origem Européia foi de 44% e 15%, respectivamente; a de origem Africana foi de 42% e 72%, respectivamente; e a de

origem Ameríndia foi de 14% e 6%, respectivamente. Os dados destes trabalhos estão resumidos no Apêndice 9.

No presente estudo, as contribuições das principais populações parentais foram estimadas com base nas frequências dos genes do biometabolismo avaliados utilizando o programa ADMIX95 e tiveram a seguinte distribuição: para a amostra de Euro-descendentes a contribuição Européia foi 75%, a Africana foi 17% e a Ameríndia 8%. Para a amostra de Afro-descendentes a contribuição Européia foi 40%, a Africana foi 39% e a Ameríndia foi 21% (Tabela 12).

A contribuição encontrada no presente estudo apresentou-se semelhante à encontrada nos demais estudos que avaliaram a população paranaense para a amostra de Euro-descendentes, porém a contribuição Ameríndia na amostra de Afro-descendentes foi elevada em relação aos demais trabalhos.

Alguns fatores podem explicar essa disparidade. Entre eles o baixo número de estudos sobre as frequências das variantes dos genes do biometabolismo em Ameríndios, principalmente nos grupos que entraram na formação das populações do Sul do Brasil como Guaranis e Kaingangs, não permite uma estimativa consistente das frequências desses genes na população Ameríndia parental. Para o presente estudo foram utilizados dados de somente um trabalho (GASPAR et al., 2002b) do qual foram retiradas as frequências utilizadas no cálculo de estimativa das contribuições.

Outro fator seria a dificuldade de encontrar marcadores que sejam realmente informativos para estimativas de frequências alélicas das populações parentais Ameríndias, principalmente devido a eventos de deriva genética que esses grupos sofreram durante a chegada às Américas que possivelmente alteraram de maneira significativa essas frequências (PARRA et al., 2002). Segundo GASPAR et al. (2002b), a deriva genética pode ser uma explicação para as elevadas frequências das variantes *CYP1A1**2A e *2C entre os Ameríndios, assim como seleção natural em resposta a mudanças ambientais, uma vez que estes genes codificam enzimas que são responsáveis por metabolizar um grande número de xenobióticos.

Por fim, a classificação das amostras para estudos como este precisa ser criteriosa para que as frequências avaliadas correspondam realmente ao grupo étnico que se pretende estudar. Segundo GATTÁS et al. (2004), a proporção de miscigenação difere de acordo com a região brasileira e a terminologia usada para

nomear os grupos étnicos pode ser altamente variável. ROSENBERG et al. (2002) apontam a auto-classificação de ancestralidade como uma alternativa menos invasiva do que a classificação de ancestralidade genética, apresentando resultados próximos desta. Entretanto, deve-se ter cuidado em considerar a auto-classificação, principalmente no Brasil, que possui uma população altamente miscigenada e onde existe uma tendência social ao branqueamento (ZEMBRZUSKI, CALLEGARI-JAQUES e HUTZ, 2006).

No presente trabalho as amostras foram divididas em Euro-descendentes e Afro-descendentes através de auto-classificação dos indivíduos feita com base em questionário (Anexo). Assim, uma hipótese que poderia explicar também a grande contribuição Ameríndia presente na amostra de Afro-descendentes, seria uma auto-classificação incorreta da ancestralidade. Segundo PROBST et al. (2000), o componente Ameríndio na população paranaense foi subestimado, portanto a contribuição encontrada neste trabalho pode indicar resultados mais consistentes, porém necessita de mais estudos para ser corroborada.

Mesmo com valores de contribuição próximos aos demais estudos com a população paranaense, os genes do biometabolismo aparentemente não são bons marcadores para este tipo de estimativa. Segundo ZEMBRZUSKI, CALLEGARI-JAQUES e HUTZ (2006), marcadores de ancestralidade genética devem apresentar frequências que caracterizem as populações parentais, o que ainda não ocorre com esses genes.

As frequências das variantes de alguns genes do biometabolismo não se apresentam homogêneas dentro de grupos étnicos estabelecidos como discutido anteriormente e, além disso, algumas dessas frequências não apresentam diferenças significativas entre os diversos grupos étnicos. Estudos utilizando marcadores de ancestralidade genética bem definidos para as três populações parentais da população brasileira e um aumento do número de indivíduos das amostras, principalmente a de Euro-descendentes, são necessários para aumentar a consistência dos resultados obtidos no presente estudo para a contribuição genética.

Como discutido no item 1.5, os genes do biometabolismo têm sido amplamente utilizados em estudos de associação, especialmente para auxiliar na compreensão das bases genéticas de características quantitativas, como a suscetibilidade a doenças complexas, como o câncer. Entretanto, esse tipo de

estudo deve considerar em seu delineamento, o impacto da estratificação populacional e o grau de miscigenação da população controle (ARDLIE, LUNETTA e SEIELSTAD, 2002; FREEDMAN et al., 2004).

Quando há diferenças entre grupos de indivíduos em uma população, diz-se que ela é estratificada ou subdividida. Entretanto, essas diferenças podem muitas vezes não ser detectadas, levando a associações espúrias (ZEMBRZUSKI, CALLEGARI-JAQUES e HUTZ, 2006). Ao avaliar genes cujas frequências sejam dependentes de etnia em estudos de associação para doenças complexas com múltiplos fatores de risco ambientais e genéticos, é possível que em alguns casos o grupo de alto risco tenha uma baixa prevalência do alelo de alto risco, se outras variantes genéticas e fatores de risco ambientais forem mais altos naquele grupo (ZIV e BURCHARD, 2003).

Desse modo, com base nos resultados deste trabalho, podemos ressaltar duas informações que devem ser observadas para o planejamento de estudos tipo caso-controle nas populações brasileiras para genes cujas frequências são dependentes da etnia, como os genes do biometabolismo.

Primeiro, o pareamento das amostras deve ser bastante criterioso quanto a ancestralidade dos pacientes e controles para excluir possíveis associações falso-positivas ou falso-negativas que frequências resultantes de componentes miscigenados nestas amostras possam gerar. As amostras avaliadas neste trabalho apresentaram frequências distintas e também um possível componente Ameríndio bastante elevado. Este componente pode alterar de maneira significativa a frequência dos genes avaliados em um estudo de associação podendo gerar associações espúrias.

Segundo, as frequências dos genes que serão estudados devem ser previamente avaliadas para um melhor dimensionamento do número amostral, uma vez que variantes como *CYP2E1*5B* podem apresentar frequências menores que outros genes do biometabolismo analisados nas diferentes populações, necessitando um número amostral maior para encontrar associações consistentes. Este trabalho contribui com um perfil geral dessas frequências na população do Sul do Brasil e pode ser uma fonte de consulta para o planejamento de futuros estudos de associação em doenças complexas como o câncer.

7 CONCLUSÕES

- As frequências para as variantes dos genes avaliados no nosso estudo, nas amostras de Euro-descendentes e de Afro-descendentes apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparadas com as descritas em diferentes amostras de populações não-brasileiras, demonstrando, uma vez mais, o alto grau de miscigenação da população brasileira.
- Na comparação com frequências de estudos em populações brasileiras, somente as dos genes *CYP2E1* e *GSTP1* não se apresentaram homoganeamente distribuídas, provavelmente devido à heterogeneidade da miscigenação presente nas diversas regiões brasileiras.
- A distribuição das frequências das variantes dos genes *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1* e *GSTP1*, apresentaram-se de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg.
- As amostras apresentaram uma diferenciação genética estatisticamente significativa, tanto entre as frequências alélicas como genotípicas, refletindo as diferenças de contribuição das prováveis populações ancestrais.
- A análise da diversidade genética, demonstrou que, entre os genes analisados nesta amostra da população do Sul do Brasil, o *GSTP1* apresentou a maior diversidade alélica, indicando uma possível tendência evolutiva à heterozigose da variante *GSTP1*B*, enquanto *CYP2E1* apresentou menor, indicando uma tendência à homozigose.
- A contribuição genética das populações européia, africana e ameríndia parentais foi estimada para a amostra de Euro-descendentes apresentando 75% de Europeus, 17% de Africanos e 8% de Ameríndios; e para a amostra de Afro-descendentes a contribuição de

Europeus foi 40%, de Africanos 39% e de Ameríndios 21%. Essa contribuição foi semelhante às descritas para a população paranaense em outros trabalhos com outros marcadores, exceto para a contribuição Ameríndia na amostra de Afro-descendentes que foi elevada, necessitando corroboração.

Finalmente, concluímos que as informações obtidas neste estudo contribuem para auxiliar no melhor delineamento de estudos do tipo caso-controle que incluam estes genes na população brasileira.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, S. Z.; EL-ZEIN, R. A.; ANWAR, W. A.; AU, W. W. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of *GSTM1* and *GSTT1* genes in population studies. **Cancer Lett**, n. 107, p. 229-233, 1996.
- AGUNDEZ, J. A.; LEDESMA, M. C.; LADERO, J. M.; BENITEZ, J. Prevalence of *CYP2D6* gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. **Clin. Pharm. Ther.**, v. 57, p. 265-269, 1995.
- AKULLU, E.; PERSSON, I.; BERTILSSON, L.; JOHANSSON, I.; RODRIGUES, F.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional *CYP2D6* alleles. **J. Pharm. Exp. Ther.**, v. 278, p. 441-446, 1996.
- ALI, S.; EL-RAYES, B. F.; HEILBRUN, L. K.; SARKAR, F. H.; ENSLEY, J. F.; KUCUK, O.; PHILIP, P. A. Cytochrome P450 and glutathione S-transferase expression in squamous cell cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 10, n. 6, p. 4412-4416, 2004.
- ALVES-SILVA, J.; SANTOS, M. S.; GUIMARÃES, P. E. M.; FERREIRA, A. C. S.; BANDELT, H.; PENA, S. D. J.; PRADO, V. F. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. **Am. J. Hum. Genet.**, n. 67, p. 444-461, 2000.
- AMORIM, L. M.; LOTSCH, P. F.; SIMAO, T. D.; TDE, A.; GALLO, C. V.; PINTO, L. F. Analysis of *CYP1A1* exon 7 polymorphisms by PCR-SSCP in a Brazilian population and description of two novel gene variations. **Mutat. Res.**, v. 547, n. 1-2, p. 35-40, 2004.
- ARDLIE, K. G.; LUNETTA, K. L.; SEIELSTAD, M. Testing for population subdivision and association in four case-control studies. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 71, p. 304-311, 2002.
- ARRUDA, V. R.; GRIGNOLLI, C. E.; GONÇALVES, M. S.; SOARES, M. C.; MENEZES, R.; SAAD, S. T. O.; COSTA, F. F. Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) and theta (*GSTT1*) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? **Clin. Genet.**, n. 54, p. 210-214, 1998.
- AUTRUP, H. Genetic polymorphisms in human xenobiotic metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. **Mut. Res.**, n. 464, p. 65-76, 2000.
- BAILEY, L. R.; ROODI, N.; VERRIER, C. S.; YEE, C. J.; DUPONT, W. D.; PARL, F. F. Breast cancer and *CYP1A1*, *GSTM1*, and *GSTT1* polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. **Cancer Res.**, v. 58, n. 1, p. 65-70, 1998.
- BASHAM, V. M.; PHAROAH, P. D.; HEALEY, C. S.; LUBEN, R. N.; DAY, N. E.; EASTON, D. F.; PONDER, B. A.; DUNNING, A. M. Polymorphisms in *CYP1A1* and smoking: no association with breast cancer risk. **Carcinogenesis**, n. 22, p. 1797-1800, 2001.

BATISTA DOS SANTOS, S. E.; RODRIGUES, J. D.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. C.; ZAGO, M. A. Differential contribution of indigenous men and women to the formation of an urban population in the Amazon region as revealed by mtDNA and Y-DNA. **Am. J. Phys. Anthropol.**, n. 109, p.175-180, 1999.

BEIGUELMAN, B. **Curso Prático de Bioestatística**. Ed. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 1988.

BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações**. 2th. ed. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 1994.

BERNARD, S.; NEVILLE, K. A.; NGUYEN, A. T.; FLOCKHART, D. A. Interethnic differences in genetic polymorphisms of *CYP2D6* in the U.S. population: clinical implications. **The Oncologist**, n. 11, p. 126-135, 2006.

BERTILSSON, L.; DAHL, M.-L.; SJOQVIST, F.; ABERG-WISTEDT, A.; HUMBLE, M.; JOHANSSON, I.; LUNDQVIST, E.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. (Letter) **Lancet**, v. 6, p. 341, 1993.

BIGNON, J. D.; FERNANDEZ-VIÑA, M. A. Protocols of the 12th Internacional Histocompatibility Workshop for Typing of HLA class II alleles by DNA amplification by the polimerase chain reaction (PCR) and hybridization with sequence specific oligonucleotide probes (SSOP). In CHARRON, D. HLA – Genetic diversity of HLA: functional and medical implication. Paris; EDK, 1997.

BOGNI, A.; MONSHOUWER, M.; MOSCONE, A.; HIDESTRAND, M.; INGELMAN – SUNDBERGER, M.; HARTUNG, T.; COECKE, S. Substrate Specif Metabolism by Polymorphic Cytochrome P4502D6 alleles. **Toxicology In Vitro**, v. 19, p.621 –629; 2005.

BOARD, P.G.; COGGAN, M.; JOHNSTON, P.; ROSS, V.; SUZUKI, T.; WEBB, C.G. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: a complex of gene families. **Pharmacol Ther.**, v. 48, p. 357-369, 1990.

BORTOLINI, M. C.; SALZANO, F. M. mtDNA diversity analysis in Amerindians and other human populations—how different are they? **Braz. J. Genet.**, n. 19, p. 527-534, 1996.

BORTOLINI, M. C.; ZAGO, M. A.; SALZANO, F. M.; SILVA-JUNIOR, W. A.; BONATTO, S. L.; SILVA DA, M. C.; WEIMER, T. A. Evolutionary and anthropological implications of mitochondrial DNA variation in African Brazilian populations. **Hum. Biol.**, n. 69, p. 141–159, 1997.

BRADFORD, L. D.. *CYP2D6* allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. **Pharmacogenomics**, v. 3, n. 2, p. 43-229, 2002.

BRAUN-PRADO, K.; MION, A. L. V.; PEREIRA, N. F.; CULPI, L.; PETZL-ERLER, M. L. HLA class I polymorphism, as characterized by PCR-SSOP, in a Brazilian exogamic population,. **Tissue Antigens**, v. 56, p. 417-427, 2000.

BROCKMÖLLER, J.; KERB, R.; DRAKOULIS, N.; NITZ, M.; ROOTS, I. Genotype and phenotype of glutathione S-transferase class m isoenzymes and y in lung cancer patients and controls. **Cancer Res.**, v. 53, p. 1004-1011, 1993.

- CALLEGARI-JACQUES, S. M.; SALZANO, F. M. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. **Ciênc. Cult.**, n. 51, p. 166–174, 1999.
- CAPORASO, N. E.; LERMAN, C.; AUDRAIN, J.; BOYD, N. R.; MAIN, D.; ISSAQ, H. J.; UTERMAHLAN, B.; FALK, R. T.; SHIELDS, P. Nicotine Metabolism and CYP2D6 Phenotype in Smokers. **Can. Epidemiol. Biom. Prev.**, v. 10, n. 3, p. 261-263, 2001.
- CARACO, Y. Genes and the Response to Drugs. **The New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 27, p. 2867-9, 2004.
- CARSTENSEN, U.; ALEXANDRIE, A. K.; HÖGSTEDT, B.; RANNUG, A.; BRATT, I.; HAGMAR, L.; B- and T- lymphocyte micronuclei in chimney sweeps with respect to genetic polymorphism for *CYP1A1* and *GSTM1* (Class Mu). **Mut. Res.**, v. 289, p. 95-187, 1993.
- CARVALHO-SILVA, D. R.; SANTOS, F. R.; ROCHA, J.; PENA, S. D. J. The phylogeography of brazilian Y-chromosome lineages. **Am. J. Genet.**, v. 68, p. 281-286, 2001.
- CASCORBI, I.; BROCKMÖLLER, J.; ROOTS, I. A C4887A polymorphism in exon 7 of human CYP1A1. Population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility. **Cancer Res.**, n. 56, p. 49-65, 1996.
- CHAKRABORTY, R. A note on the calculation of random RP and its sampling variance. **Hum. Biol.**, v. 57, n. 12, p. 7-713, 1985.
- CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A.; PRIMO-PARMO, S. L.; DE LOURENÇO, M. A.; CULPI, L. Frequencies of atypical serum cholinesterase among caucasians and negroes from southern Brazil. **Human Heredity**, v. 34, p. 388-392, 1984.
- CHENG, L.; STURGIS, E. M.; EICHER, S. A.; CHAR, D.; SPITZ, M. R.; WEI, Q. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of squamous-cell carcinoma of head and neck. **Int. J. Cancer**, n. 84, p. 220-224, 1999.
- COTE, M. L.; KARDIA, S. L.; WENZLAFF, A. S.; LAND, S. J.; SCHWARTZ, A. G. Combinations of glutathione S-transferase genotypes and risk of early-onset lung cancer in Caucasians and African Americans: a population-based study. **Carcinogenesis**, v. 26, n. 4, p. 9-811, 2005.
- CULPI, L. **Migração, grupos sanguíneos ABO e Rh e tipos de hemoglobina na população de Curitiba**. 108p. Tese (Doutorado em Ciências – Genética) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1981.
- CULPI, L.; SALZANO, F. M. Migration, genetic markers and race admixture in Curitiba, Brazil. **J. Bios. Scie.**, v. 16, p. 127-135, 1984.
- DAHL, M. L.; JOHANSSON, I.; BERTILSSON, L.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; SJOQVIST, F. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population: analysis of the molecular genetic basis. **J. Pharm. Exp. Ther.**, v. 274, p. 516-520, 1995.
- DANDARA, C.; SAYI, J.; MASIMIREMBWA, C. M.; MAGIMBA, A.; KAAYA, S.; DE SOMMERS, K.; SNYMAN, J. R.; HASLER, J. A. Genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) and glutathione transferases (*M1*, *T1* and *P1*) among Africans. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 40, n. 9, p. 72-952, 2002.

DIALYNA, I. A.; ARVANITIS, D. A.; SPANDIDOS, D. A. Genetic polymorphisms and transcriptional pattern analysis of *CYP1A1*, *AhR*, *GSTM1*, *GSTP1* and *GSTT1* genes in breast cancer. **Int. J. Mol. Med.**, n. 8, p. 79-87, 2001.

DORNELLES, C. L.; CALLEGARI-JACQUES, S. M.; ROBINSON, W. M.; WEIMER, T. A.; FRANCO, M. H. L. P.; HICKMANN, A. C.; GEIGER, C. J. Genetics, surnames, grandparents' nationalities, and ethnic admixture in Southern Brazil: do the patterns of variation coincide? **Genet. Mol. Biol.**, n. 22, p. 151-161, 1999.

DUFOUR, C.; SVAHN, J.; BACIGALUPO, A.; LONGONI, D.; VAROTTO, S.; IORI, A. P.; BAGNASCO, F.; LOCASCIULLI, A.; MENNA, G.; RAMENGHI, U.; LANCIOTTI, M. Genetic polymorphisms of *CYP3A4*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* and *NQO1* and the risk of acquired idiopathic aplastic anemia in Caucasian patients. **Hem. J.**, v. 90, n. 8, p. 1027-1031, 2005.

ENOKIDA, H.; SHINA, H.; URAKAMI, S.; IGAWA, M.; OGISHIMA, T.; POOKOT, D.; LI, L. C.; TABATABAI, Z. L.; KAWAHARA, M.; NAKAGAWA, M.; KANE, C. J.; CARROLL, P. R.; DAHIYA, R. Ethnic group-related differences in CpG hypermethylation of the *GSTP1* gene promoter among African-American, Caucasian and Asian patients with prostate cancer. **Int. J. Cancer**, v. 116, n. 2, p. 81-174, 2005.

EVANS, W. E.; RELLING, M. V.; RAHMAN, A.; MCLEOD, H. L.; SCOTT, E. P.; LIN, J. S. Genetic basis for a lower prevalence of deficient *CYP2D6*: oxidative drug metabolism phenotypes in black americans. **J. Clin. Invest.**, v. 91, p. 2150-2154, 1993.

EVANS, W.E.; RELLING, M.V. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. **Nature**, v. 429, p. 464-8, 2004.

FAUSTO, B. **História do Brasil** 5^a ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo/Fundação do Desenvolvimento da Educação, 1997.

FERREIRA, M. E.; GATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Embrapa-Cenargem, Brasília, 1998.

FERREIRA, B. L.; MENDES-JÚNIOR, C. T.; WIEZEL, C. E. V.; LUIZON, M. R.; SIMÕES, A. L. Y-STR diversity and ethnic admixture in White and mulatto brazilian population samples. **Genet. and Mol. Biol.**, v. 29, n. 4, p. 605-607, 2006.

FONTANA, W.; PEYROTTE, I.; ROSSI, C.; LEBLANC-TALENT, P.; ETTORE, F.; NAMER; BUSSIÈRE, F. Study of sequence of *CYP1A1* gene polymorphisms and glutathione S-transferase mu 1 gene in primary breast cancers: an update with an additional 114 cases. **Mut. Res.**, v. 403, p. 45-53, 1998.

FORD, J. G.; LI, Y.; O'SULLIVAN, M. M.; DEMOPOULOS, R.; GARTE, S.; TAIOLI, E.; BRANDT-RAUF, P. W. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African-Americans. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 11, p. 5-1971, 2000.

FREEDMAN, M. L.; REICH, D.; PENNEY, K. L.; McDONALD, G. J.; MIGNAULT, A. A.; PATTERSON, N.; GABRIEL, S. B.; TOPOL, E. J.; SMOLLER, J. W.; PATO, C. N.; PETRYSHEN, T. L.; KOLONEL, L. N.; LANDER, E. S.; SKLAR, P.; HENDERSON, B.; HIRSCHHORN, J. N.; ALTSHULER, D. Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. **Nat. Genet.**, v. 36, p. 388-393, 2004.

GAEDIGK, A.; BRADFORD, L. D.; MARCUCCI, K. A.; LEEDER, J. S. Unique *CYP2D6* activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. **Clin. Pharm. Ther.**, v. 72, n. 1, p. 76-89, 2002.

GAJECKA, M.; RYDZANICZ, M.; JASKULA-SZTUL, R.; KUJAWSKI, M.; SZYFTER, W.; SZYFTER, Z. *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *NAT2*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngeal squamous cell carcinoma. **Mutation Research**, v. 574, n. 3, p. 112-123, 2005.

GAO, C.; TAKEZAKI, T.; WU, J.; LI, Z.; WANG, J.; DING, J.; LIU, Y.; HU, X.; XU, T.; TAJIMA, K.; SUGIMURA, H. Interaction between cytochrome P-450 2E1 polymorphisms and environmental factors with risk of esophageal and stomach cancers in Chinese. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v.11, p. 29-34, 2002.

GARTE, S. J.; TRACHMAN, J.; CROFTS, F.; TONIOLO, P.; BUXBAUM, J.; BAYO, S.; TAIOLI, E. Distribution of composite *CYP1A1* genotypes in Africans, African-Americans and Caucasians. **Hum. Hered.**, v. 46, n. 3, p. 7-121, 1996.

GARTE, S.; GASPARI, L.; ALEXANDRIE, A. K.; AMBROSONE, C.; AUTRUP, H.; AUTRUP, J. L.; BARANOVA, H.; BATHUM, L.; BENHAMOU, S.; BOFFETTA, P.; BOUCHARDY, C.; BRESKVAR, K.; BROCKMOLLER, J.; CASCORBI, I.; CLAPPER, M. L.; COUTELLE, C.; DALY, A.; DELL'OMO, M.; DOLZAN, V.; DRESLER, C. M.; FRYER, A.; HAUGEN, A.; HEIN, D. W.; HILDESHEIM, A.; HIRVONEN, A.; HSIEH, L. L.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; KALINA, I.; KANG, D.; KIHARA, M.; KIYOHARA, C.; KREMERS, P.; LAZARUS, P.; LE MARCHAND, L.; LECHNER, M. C.; VAN LIESHOUT, E. M.; LONDON, S.; MANNI, J. J.; MAUGARD, C. M.; MORITA, S.; NAZAR-STEWART, V.; NODA, K.; ODA, Y.; PARL, F. F.; PASTORELLI, R.; PERSSON, I.; PETERS, W. H.; RANNUG, A.; REBBECK, T.; RISCH, A.; ROELANDT, L.; ROMKES, M.; RYBERG, D.; SALAGOVIC, J.; SCHOKET, B.; SEIDEGARD, J.; SHIELDS, P. G.; SIM, E.; SINNET, D.; STRANGE, R. C.; STUCKER, I.; SUGIMURA, H.; TO-FIGUERAS, J.; VINEIS, P.; YU, M. C.; TAIOLI, E. Metabolic gene polymorphisms frequencies in control populations. **Can. Epidemiol. Biomarkers. Prev.**, v. 10, p. 1239-1248, 2001.

GASPAR, P. A.; KVITKO, K.; PAPADOPOLIS, L. G.; HUTZ, M. H.; WEIMER, T. A. High frequency of *CYP1A1**2C allele in Brazilian populations. **Hum. Biol.**, v. 74, n. 2, p. 42-235, 2002a.

GASPAR, P. A.; HUTZ, M. H.; SALZANO, F. M.; HILL, K.; HURTADO, A. M.; PETZLER, M. L.; TSUNETO, T.; WEIMER, A. Polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1* and *TP53* in Amerindians. **Am. J. Phys. Anthropol.**, v. 119, p. 149-256, 2002b.

GATTÁS, G. J. F.; SOARES-VIEIRA, J. A. Cytochrome P450-2E1 and glutathione S-transferase mu polymorphisms among Caucasians and mulattoes from Brazil. **Occup. Med.**, v. 50, n. 7, p. 508-511, 2000.

GATTÁS, G. J. F.; KATO, M.; SOARES-VIEIRA, J. A.; SIRAQUE, M. S.; KOHLER, P.; GOMES, L.; REGO, M. A. V.; BYDLOWSKI, S. P. Ethnicity and glutathione S-transferase (*GSTM1/GSTT1*) polymorphisms in a Brazilian population. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, n. 34, p. 451-458, 2004.

- GEISLER, S. A.; OLSHAN, A. F. *GSTM1*, *GSTT1*, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-huge review. **Am. J. Epidemiol.**, v. 154, n. 2, p. 95-103, 2001.
- GOTO, I.; YONEDA, S.; YAMAMOYO, M.; KAWAJIRI, K. Prognostic significance of germ line polymorphisms of the *CYP1A1* and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. **Cancer Res.**, v. 56, p. 3725-3730, 1996.
- GOUDET, J. FSTAT version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. **J. Hered.**, v. 86, p. 485-486, 1995.
- GOUGH, A. C.; MILES, J. S.; SPURR, N. K.; MOSS, J. E.; GAEDIGK, A.; EICHELBAUM, M.; WOLF, C. R. Identification of the primary gene defect at the cytochrome P(450) *CYP2D* locus. **Nature**, v. 347, p. 773-776, 1990.
- GSUR, A.; HAIDINGER, G.; HOLLAUS, P. et al. Genetic polymorphisms of *CYP1A1* and *GSTM1* and lung cancer risk. **Anticancer Res.**, n. 21, p. 2237-2242, 2001.
- GUERREIRO, J. F.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. C.; SANTOS, E. J. M.; VALLINOTO, A. C. R.; CAYRES-VALLINOTO, I. M. V.; AGUIAR, G. F. S.; SANTOS, S. E. B. Genetical-demographic data from two Amazonian populations composed of descendants of African slaves: Pacovaland Curiau. **Genet. Mol. Biol.**, n. 22, p. 163-167, 1999.
- GUDEMUNDSDOTTIR, K.; TRYGGVADOTTIR, L.; EYFJORD, J. E. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* genotypes in relation to breast cancer risk and frequency of mutations in the *p53* gene. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 10, n. 11, p. 1169-1173, 2001.
- HAHN, M.; HAGEDORN, G.; KUHLSCH, E.; SCHACKERT, H. K.; ECKELT, U. Genetic polymorphisms of drug metabolizing enzymes and susceptibility to oral cavity cancer. **Oral Oncol.**, v. 38, p. 486-490, 2002.
- HALDANE, J. B. S. An exact test for randomness of mating. **J. Genet.**, v. 52, p. 631-635, 1954.
- HARRIES, L.W.; STUBBINS, M.J.; FORMAN, D.; HOWARD, G.C.; WOLF, C.R. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase *Pi* locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. **Carcinogenesis**, v.18, p. 641-644, 1997.
- HATAGIMA, A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. **Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro**, n. 18: p. 357-377, 2002.
- HATAGIMA, A.; MARQUES, C. F.; KRIEGER, H.; FEITOSA, M. F. Glutathione S-transferase M1 (*GSTM1*) and T1 (*GSTT1*) polymorphisms in a Brazilian mixed population. **Hum. Biol.**, v. 76, n. 6, p. 937-42, 2004.
- HAYASHI, S.; WATANABE, J.; KAWAJIRI, K. Genetic polymorphisms in the 5-prime-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. **J. Biochem.**, v. 110, p. 559-565, 1991.
- HELZLSouer, K. J.; SELMIN, O.; HUANG, H. Y.; STRICKLAND, P. T.; HOFFMAN, S.; ALBERG, A. J.; WATSON, M.; COMSTOCK, G. W.; BELL, D. Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 90, n. 7, p. 8-512, 1998.

HILDEBRAND, C. E.; GONZALEZ, F. J.; MCBRIDE, O. W.; NEBERT, D. W. Assignment of the human 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-inducible cytochrome P1-450 gene to chromosome 15. **Nucleic Acids Res.**, v. 13, p. 2009-2016, 1985.

HIRVONEN, A.; HUSGAFVEL-PURSIANEN, K.; ANTTILA, S.; KARJALAINEN, A.; VAINIO, H. The human *CYP2E1* gene and lung cancer: *DraI* and *RsaI* restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. **Carcinogenesis**, v. 14, p. 85-88, 1993.

HORI, H.; KAWANO, T.; ENDO, M.; YUASA, Y. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and human esophageal squamous cell carcinoma susceptibility. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 25, p. 568-575, 1997.

HUANG, C. S.; SHEN, C. Y.; CHANG, K. J.; et al. Cytochrome P4501A1 polymorphism as a susceptibility factor for breast cancer in postmenopausal Chinese women in Taiwan. **Br. J. Cancer**, v. 80, p. 1838-43, 1999.

HUANG, K.; SANDLER, R. S.; MILIKAN, R. C.; SCHROEDER, J. C.; NORTH, R. E.; HU, J. *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms, cigarette smoking, and risk of colon cancer, a population-based case-control study in North Carolina (United States). **Cancer Causes Control**, v. 17, n. 4, p. 385-94, 2006.

HUNG, H.; CHANG, J.; CHIEN, Y.; et al. Genetic polymorphisms of *CYP2E1*, *GSTM1* and *GSTT1*, environmental factors and risk of oral cancer. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, n. 6, p. 901-5, 1997.

HUNG, R. J.; BOFFETTA, P.; BROCKMOLLER, J. et al. *CYP1A1* and *GSTM1* genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis, **Carcinogenesis**, v. 24, p. 875-882, 2003.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil: 500 anos de povoamento**. IBGE, Rio de Janeiro, 2000.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Disponível em:

<<http://www.ibge.gov.br>>

Acesso em: 12 dez. 2006.

INGELMAN-SUNDBERG, M.; OSCARSON, M.; McLELLAN, R. A. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 20, p. 342 – 349, 1999.

INGELMAN – SUNDBERG, M.; EVANS, W.E. Unravelling the functional genomics of the human CYP2D6 gene locus. **Pharmacogenetics**, v. 11, n. 7, p. 553-4, 2001.

INGELMAN-SUNDBERG, M.; DALY, A. K.; NEBERT, D. W.; SIM, S. C. Home Page of the Human Cytochrome P450 (*CYP*) Allele Nomenclature Committee.

Disponível em:

<<http://www.cypalleles.ki.se>>

Acesso em: 20 nov. 2006.

INOUE, H.; KIYOHARA, C.; MARUGAME, T.; et al. Cigarette smoking, *CYP1A1 MspI* and *GSTM1* genotypes, and colorectal adenomas. **Cancer Res.**, v. 60, p. 3749–52, 2000.

IPARDES – Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social

Disponível em:

<<http://www.ipardes.gov.br>>

Acesso em: 12 dez. 2006.

ISMAIL, R.; TEH, L. K.; AMIR, J.; ALW, Z.; LOPEZ, C. G. Genetic polymorphism of *CYP2D6* in Chinese subjects in Malaysia. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v. 28, p. 279-284, 2003.

JANN, M. W.; COHEN, L. J. The influence of ethnicity and antidepressant pharmacogenetics in the treatment of depression. **Drug Metabol. Drug Interact.**, v. 16, n. 1, p. 39-67, 2000.

JOHANSSON, I.; LUNDQVIST, E.; BERTILSSON, L.; DAHL, M. L.; SJOQVIST, F.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v. 90, p. 11825-11829, 1993.

JOHANSSON, A.S.; STENBERG, G.; WIDERSTEN, M.; MANNERVIK, B. Structure-activity relationships and thermal stability of human glutathione transferase P1-1 governed by the H-site residue 105. **J. Mol. Biol.**, v. 278, p. 687-698, 1998.

JOURENKOVA, N.; REINIKAINEN, M.; BOUCHARDY, C.; DAYER, P.; BENHAMOU, S.; HIRVONEN, A. Larynx cancer risk in relation to glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and tobacco smoking. **Can. Epidemiol. Biomark. Prev.**, n. 7, p. 19-23, 1998.

KALANT, H.; ROSCHLAV, W. H. E; **Princípios de Farmacologia Médica**. 5ª Ed. Guanabara-Koogan, 1991.

KANG, D. Genetic polymorphisms and cancer susceptibility of breast cancer in Korean women. **J. Biochem. Mol. Biol.**, v. 36, n. 1, p. 28-34, 2003.

KATO, S.; SHIELDS, P. G.; CAPORASO, N. E.; SUGIMURA, H.; TRIVERS, G. E.; TUCKER, M. A.; TRUMP, B. F.; WESTON, A.; HARRIS, C. C. Cytochrome P450IIIE1 genetic polymorphisms racial variation and lung cancer risk. **Cancer Res.**, v. 56, p. 6712-6715, 1992.

KATO, S.; SHIELDS, P. G.; CAPORASO, N. E.; SUGIMURA, H.; TRIVERS, G. E.; TUCKER, M. A.; TRUMP, B. F.; WESTON, A.; HARRIS, C. C. Analysis of cytochrome P450 2E1 genetic polymorphisms in relation to human lung cancer. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 3, n. 6, p. 81-515, 1994.

KATOH, T.; KANEKO, S.; KOHSHI, K.; et al. Genetic polymorphisms of tobacco-and alcohol-related metabolizing enzymes and oral cavity cancer. **Int. J. Cancer**, n. 83, p. 606-9, 1999.

KAWAJIRI, K.; NAKACHI, K.; IMAI, K.; YAOSHII, A.; SHINODA, N.; WATANABE, J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P-450IA1 gene. **FEBS Lett.**, v. 263, p. 131-133, 1990.

KELSEY, K. T.; WIENCKE, J. K.; SPITZ, M. R. A race-specific genetic polymorphism in the CYP1A1 gene is not associated with lung cancer in African Americans. **Carcinogenesis**, v. 15, n. 6, p. 4-1121, 1994.

- KELSEY, K. T.; SPITZ, M. R.; ZUO, Z. F.; WIENCKE, J. K. Polymorphisms in the glutathione S-transferase class mu and theta genes interact and increase susceptibility to lung cancer in minority populations (Texas, United States). **Cancer Causes Control.**, v. 8, n. 4, p. 9-554, 1997.
- KIM, K.; JOHNSON, J. A.; DERENDORF, H. Differences in drug pharmacokinetics between east asians and caucasians and the role of genetic polymorphisms. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 44, p. 1083-1205, 2004.
- KITADA, T.; SEKI, S.; SAKAGUCHI, H.; SAWADA, T.; HIRAKAWA, K.; WAKASA, K. Clinicopathological significance of hypoxia-inducible factor-1 α expression in human pancreatic carcinoma. **Histopathology**, v. 43, n. 6, p. 550-5, 2003.
- KITTLES, R. A.; WEISS, K. M. Race, ancestry, and genes: implications for defining disease risk. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, n. 4, p. 33-67, 2003.
- KOLBLE, K.; Regional mapping of short tandem repeats on human chromosome 10: cytochrome P450 gene CYP2E, D10S196, D10S220, and D10S225. **Genomics**, v. 18, p. 702-704, 1993.
- KRIEGER, H.; MORTON, N. E.; MI, M. P.; AZEVEDO, E.; FREIRE-MAIA, A.; YASUDA, N. Racial admixture in north-eastern Brazil. **Ann. Hum. Genet.**, n. 29, p. 113-125, 1965.
- KVITKO, K.; GASPAR, P. de A.; TORRES, A. R.; HUTZ, M. *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms in an Afro-brazilian group. **Genet. Mol. Biol.**, v. 29, n. 4, p. 613-616, 2006.
- LAFOREST, L.; WIKMAN, H.; BENHAMOU, S.; SAARIKOSKI, S. T.; BOUCHARDY, C.; HIRVONEN, A.; DAYER, P.; HUSGAFVEL-PURSIANEN, K. *CYP2D6* gene polymorphism in caucasian smokers: lung cancer susceptibility and phenotype-genotype relationships. **European Journal of Cancer**, v. 36, p. 1825-1832, 2000.
- LE MARCHAND, L.; SIVARAMAN, L.; PIERCE, L.; SEIFRIED, A.; LUM, A.; WILKENS, L. R.; LAU, A. F. Associations of *CYP1A1*, *GSTM1*, and *CYP2E1* polymorphisms with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens. **Cancer Res.**, v. 58, p. 4858-4863, 1998.
- LE MARCHAND, L. L.; DONLON, T.; KOLONEL, L. N.; HENDERSON, B. E.; WILKENS, L. R. Estrogen Metabolism – Related Genes and Breast Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. **Can. Epidemiol. Biomar. Prev.** v.14, n. 8, p. 1998-2003, 2005.
- LEATHART, J. B.; LONDON, S. J.; STEWARD, A.; ADAMS, J. D.; IDLE, J. R.; DALY, A. K. *CYP2D6* phenotype-genotype relationships in African-Americans and Caucasians in Los Angeles. **Pharmacogenetics**, v. 8, p. 529-41, 1998.
- LEE, J. M.; LEE, Y. C.; YANG, S. Y.; SHI, W. L.; LEE, C. J.; LUH, S. P.; CHEN, C. J.; HSIEH, C. Y.; WU, M. T. Genetic polymorphisms of p53 and *GSTP1*, but not *NAT2*, are associated with susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. **Int. J. Cancer**, v. 89, p. 458-464, 2000.

LEICHSENDRING, A.; LOSI-GUEMBAROVSKI, R.; MACIEL, M. E.; LOSI-GUEMBAROVSKI, A.; OLIVEIRA, B. W.; RAMOS, G.; CAVALCANTI, T. C. S.; BICALHO, M. G.; CAVALLI, I. J.; CÔLUS, I. M. S.; RIBEIRO, E. M. S. F. *CYP1A1* and *GSTP1* polymorphisms in an oral cancer case-control study. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 39, n. 12, p. 1569-1574, 2006.

LEVENE, H. On a matching problem arising in genetics. **Ann. Math. Stat.**, v. 20, p. 91-94, 1949.

LI, Y.; MILLIKAN, R. C.; BELL, D. A.; CUI, L.; TSE, C. K. J.; NEWMAN, B.; CONWAY, K. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) polymorphisms, and breast cancer risk among African American women and white women in North Carolina: a population-based case-control study. **Breast Cancer Res.**, v. 7, n. 1, p. 12-28, 2004.

LIN, D.; TANG, Y.; PENG, Q. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase P1 and susceptibility to esophageal cancer. **Zhonghua Zhongliu Zazhi**, v. 20, p. 94-97, 1998.

LONDON, S. J.; DALY, A. K.; FAIRBROTHER, K. S.; HOLMES, C.; CARPENTER, C. L.; NAVIDI, W. C.; IDLE, J. R. Lung cancer risk in African-Americans in relation to a race-specific *CYP1A1* polymorphism. **Cancer Res.**, v. 55, n. 24, p. 7-6035, 1995.

LONDON, S. J.; DALY, A. K.; COOPER, J.; CARPENTER, C. L.; NAVIDI, W. C.; DING, L.; IDLE, J. R. Lung cancer risk in relation to the *CYP2E1 RsaI* genetic polymorphism among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. **Pharmacogenetics**, v. 6, n. 2, p. 8-151, 1996.

LONGUEMAUX, S.; DELOME'NIE, C.; GALLOU, C.; ME'JEAN, A.; VINCENT-VIRY, M.; BOUVIER, R.; DROZ, D.; KRISHNAMOORTHY, R.; GALTEAU, M.; JUNIEN, C.; BE'ROUD, C.; DUPRET, J. Candidate Genetic Modifiers of Individual Susceptibility to Renal Cell Carcinoma: A Study of Polymorphic Human Xenobiotic-metabolizing Enzymes. **Cancer Research**, v. 59, n. 6, p. 2903-2908, 1999.

LOPEZ, M.; GUERRERO, J.; JUNG-COOK, H.; ALONSO, M. E. *CYP2D6* genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 61, n. 10, p. 54-749, 2005.

LOSI-GUEMBAROVSKI, R.; D'ARCE, L. P. G.; CÔLLUS, I. M. S.; Glutathione S-transferase mu (*GSTM1*) null genotype in relation to gender, age and smoking status in a healthy Brazilian population. **Genet. Mol. Biol.**, n. 25, p. 357-360, 2002.

MA, M.K.; WOO, M.H.; McLEOD, H.L. Genetic basis of drug metabolism. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, v. 59, n. 21, p. 2061-9, 2002.

MARQUESE, R. B.; A dinâmica da escravidão no Brasil. Resistência, tráfico negreiro e alforrias, séculos XVII a XIX. **Novos Estudos – CEBRAP**, v. 74, p. 107-123. 2006.

MASSON, L. F.; SHARP, L.; COTTON, S. C.; LITTLE, J. Cytochrome P-450 1A1 Gene Polymorphisms and Risk of Breast Cancer: A HuGE Review. **Amer. J. of Epidemiol.**, v. 161, n. 10, p. 901-915, 2005.

MATTOSO, K. Q. **Ser escravo no Brasil**. São Paulo: Brasiliense, 1982.

MENDOZA, R.; WAN, Y. Y.; POLAND, R. E.; SMITH, M.; ZHENG, Y.; BERMAN, N.; LIN, K. *CYP2D6* polymorphism in a Mexican American population. **Clin. Pharm. Ther.**, v. 70, n. 6, p. 552-560, 2001.

MENOYO, A.; DEL RIO, E.; BAIGET, M. Characterization of variant alleles of cytochrome *CYP2D6* in a Spanish population. **Cell Biochem. Funct.**, v.24, n. 5, p. 5-381, 2006.

MILLIKAN, R.; PITTMAN, G.; TSE, C. K.; SAVITZ, D. A.; NEWMAN, B.; BELL, D. Glutathione S-transferases M1, T1, and P1 and breast cancer. **Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.**, v. 9, n. 6, p. 567-573, 2000.

MITRUNEN, K.; JOURENKOVA, N.; KATAJA, V.; ESKELINEN, M.; KOSMA, V.; BENHAMOU, S.; VAINIO, H.; UUSITUPA, M.; HIRVONEN, A. Glutathione S-transferase *M1*, *M3*, *P1*, and *T1* genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. **Can. Biom. Prev.**, v. 10, n. 3, p. 229-256, 2001.

MIYOSHY, Y.; TAKAHASHI, Y.; EGAWA, C.; NOGUCHI, S. Breast cancer risk in Japanese women. **The Breast Journal**, v. 8, n. 4, p. 209-215, 2002.

MOHR, L. C.; RODGERS, J. K.; SILVESTRI, G. A. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and the risk of lung cancer. **Anticancer Res.**, v. 23, n. 3A, p. 24-2111, 2003.

MORITA, S.; YANO, M.; SHIOZAKI, H.; TSUJINAKA, T.; EBISUI, C.; MORIMOTO, T.; KISHIBUTI, M.; FUJITA, J.; OGAWA, A.; TANIGUCHI, M.; INOUE, M.; TAMURA, S.; YAMAZAKI, K.; KIKKAWA, N.; MIZUNOYA, S.; MONDEN, M. *CYP1A1*, *CYP2E1* and *GSTM1* polymorphisms are not associated with susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. **Int. J. Cancer**, v. 71, p. 192-195, 1997.

MORITA, S.; YANO, M.; TSUJINAKA, T.; OGAWA, A.; TANIGUCHI, M.; KANEKO, K.; SHIOZAKI, H.; DOKI, Y.; INOUE, M.; MONDEN, M. Association between genetic polymorphisms of glutathione S-transferase P1 and N-acetyltransferase 2 and susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. **Int. J. Cancer**, v. 79, p. 517-520, 1998.

MUNOZ, S.; VOLLRATH, V.; VALLEJOS, M. P.; MIQUEL, J. F.; COVARRUBIAS, C.; RADDATZ, A.; CHIANALE, J. Genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *CYP1A1* and *CYP2E1* in the South-Amerindian population of Chile. **Pharmacogenetics**, v. 8, n. 4, p. 51-343, 1998.

MURA, C.; PANSERAT, S.; VINCENT-VIRY, M.; GALTEAU, M. M.; JACQZ-AIGRAIN, E.; KRISHNAMOORTHY, R. DNA haplotype dependency of debrisoquine-4-hydroxylase (*CYP2D6*) expression among extensive metabolisers. **Hum. Genet.**, v. 92, p. 367-372, 1993.

NAKACHI, K.; IMAI, K.; HAYASHI, S.; WATANABE, J.; KAWAJIRI, K. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. **Cancer Res.**, v. 5, p. 5177-5180, 1991.

NAZAR-STEWART, V.; VAUGHAN, T.; BURT, R.; CHEN, C.; BERWICK, M.; SWANSON, G. Glutathione S-transferase M1 and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, n. 8, p. 547-551, 1999.

NIMURA, Y.; YOKOYAMA, S.; FUJIMORI, M.; AOKI, T.; ADACHI, W.; NASU, T.; HE, M.; PING, Y. M.; IIDA, F. Genotyping of the *CYP1A1* and *GSTM1* genes in esophageal carcinoma patients with special reference to smoking. **Cancer**, v. 80, p. 852-857, 1997.

NORPPA, H. Genetic susceptibility, biomarker responses, and cancer. **Mut. Res.**, n. 544, p. 339-348. 2003.

OSCARSON, M.; HIDESTRAND, M.; JOHANSSON, I.; INGELMAN-SUNDBERG, M. A. Combination of Mutations in the *CYP2D6**17 (*CYP2D6Z*) allele causes alterations in enzyme function. **Mol. Pharm.**, v. 52, n. 7, p.1034–1040, 1997.

OLIVEIRA, S. F. V. de. **Análise dos genes *CYP1A1*, *CYP2D6* e *GSTP1* em portadoras de câncer de mama esporádicos**. 49 p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

OLSHAN, A. F.; WEISLER, M. C.; WATSON, M. A.; BELL, D. A. *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*, and *NAT1* polymorphisms, tobacco use, and the risk of head and neck cancer. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 9, p. 185-191. 2000.

OSCARSON, M.; HIDESTRAND, M.; JOHANSSON, I.; INGELMAN-SUNDBERG, M. A combination of mutations in the *CYP2D6**17 (*CYP2D6Z*) allele causes alterations in enzyme function. **Mol. Pharm.**, v. 52, p. 1043-1040, 1997.

OZAWA, S.; SOYAMA, A.; MAYUMI, S.; FUKUSHIMA-UESAKA, H.; ITODA, M.; KOYANO, S.; SAT, K.; OHNO, Y.; SAITO, Y.; SAWADA, J. I. Ethnic differences in genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *CYP2C19* and *MDR1/ABCB1*. **Drug Metab. Pharmacokin.**, v. 19, n. 2, p. 83-85, 2004.

PANDYA, U.; SRIVASTAVA, S.K.; SINGHAL, S.S.; PAL, A.; AWASTHI, S.; ZIMNIAK, P.; AWASTHI, Y.C.; SINGH, S.V. Activity of allelic variants of Pi class human glutathione S-transferase toward chlorambucil. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 278, p. 258-262, 2000.

PARK, S. K.; YOO, K. Y.; LEE, S. J.; et al. Alcohol consumption, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and breast cancer risk. **Pharmacogenetics**, n. 10: p. 9-301. 2000.

PARL, F. F. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. **Cancer Lett.**, v. 221, p. 123-129, 2005.

PARRA, F. C.; AMADO, R. C.; LAMBERTUCCI, J. R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C. M.; PENA, S. D. J.; Color and genomic ancestry in Brazilians. **Genetics**, v.100, n. 1, p. 177-182, 2002.

PEARCE, N.; FOLIAKI, S.; SPORLE, A.; CUNNINGHAM, C. Genetics, race, ethnicity, and health. **B.M.J.**, v. 328, p. 1070-1072, 2005.

PERSSON, I.; JOHANSSON, I.; BERGLING, H.; DAHL, M. L.; SEIDEGARD, J.; RYLANDER, R.; RANNUG, A.; HOGBERG, J.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. **FEBS Lett.**, v. 319, n.3, p. 207-211, 1993.

PINSKY, J. **Escravidão no Brasil**. Coleção História Popular, n. 4, São Paulo: Global, 1981.

PROBST, C. M.; BOMPEIXE, E. P.; PEREIRA, N. F.; DE O DALALIO, M. M.; VISENTAINER, J. E.; TSUNETO, L. T.; PETZL-ERLER, M. L. HLA polymorphisms and evaluation of European, African and Amerindian contribution to the White and mulatto populations from Parana, Brazil. **Hum. Biol.**, v. 72, n. 4, p. 597-617, 2000.

PROBST, C. M. **Diversidade alélica e haplotípica dos genes HLA de classe II em populações paranaenses**. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

RAIMONDI, S.; BOFFETTA, P.; ANTTILA, S.; BRÖCKMOLLER, J.; BUTKIEWICZ, D.; CASCORBI, I.; CLAPPER, M. L.; DRAGANI, T. A.; GARTE, S.; GSUR, A.; HAIDINGER, G.; HIRVONEN, A.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; KALINA, I.; LAN, Q.; LEONI, V. P.; LE MARCHAND, L.; LONDON, S. J.; NERI, M.; POVEY, A. C.; RANNUG, A.; RESZKA, E.; RYBERG, D.; RISCH, A.; ROMKES, M.; RUANO-RAVINA, A.; SCHOKET, B.; SPINOLA, M.; SUGIMURA, H.; WU, X.; TAIOLI, E. Metabolic gene polymorphisms and lung cancer risk in non-smokers. An update of the GSEC study. **Mutation Research**, v.59, p. 45-57, 2005.

RAUNIO, H.; HUSGAFVEL-PURSIANEN, K.; ANTTILA, S.; HIETANEN, E.; HIRVONEN, A.; PELKONEN, O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility – a review. **Gene.**, n. 159, p. 113-121, 1995.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP: population genetics software for exact tests. **J. Hered.**, v. 86, p. 248-249, 1995.

ROSENBERG, N. A.; PRITCHARD, J. K.; WEBER, J. L.; CANN, H. M.; KIDD, K. K.; ZHIVOTOVSKY, L. A.; FELDMAN, M. W. Genetic structure of human populations. **Science**, v. 298, p. 2381-2385, 2002.

ROSSINI, A.; RAPOZO, D. C. M.; AMORIM, L. M. F.; MACEDO, J. M. B.; MEDINA, R.; NETO, J. F. N.; GALLO, C. V. M.; PINTO, L. F. R. Frequencies of *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms in a Brazilian population. **Genet. Mol. Res.**, v. 1, n. 3, p. 233-240, 2002.

ROSSINI, A.; SOARES LIMA, S.; RAPOZO, D. C. M.; FARIA, M.; ALBANO, R. M.; RIBEIRO PINTO, L. F. *CYP2A6* and *CYP2E1* polymorphisms in a Brazilian population living in Rio de Janeiro. **Braz. Journal of Med. And Bio. Res.** n. 39, p.195-201, 2006.

SALZANO, F. M.; FREIRE-MAIA, N.; **Populações Brasileiras, aspectos demográficos, genéticos e antropológicos**. Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1967.

SALZANO, F. M. Human races: myth, invention or reality? **Interciência**, n. 22, p. 221-227, 1997.

SANTOS, S. E. B.; GUERREIRO, J. F. The indigenous contribution to the formation of the population of the Brazilian Amazon region. **Braz. J. Genet.**, n. 18, p. 311-315, 1995.

SANTOS, S. E.; RIBEIRO DOS SANTOS, A. K. C.; MEYER, D.; ZAGO, M. A. Multiple founder haplotypes of mitochondrial DNA in Amerindians revealed by RFLP and sequencing. **Ann. Hum. Genet.**, n. 60, p. 305-319, 1996.

SANTOS, S. E. B.; RIBEIRO DOS SANTOS, A. K. C.; SANTOS, E. J. M.; GUERREIRO, J. F. The Amazonian microcosm. **Ciênc. Cult.**, n. 51, p.181-190, 1999.

SATO, M.; SATO, T.; IZUMO, T.; et al. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. **Carcinogenesis**, n. 20, p. 1927–31, 1999.

SCORDO, M. G.; CAPUTI, A. P.; D'ARRIGO, C.; FAVA, G.; SPINA, E. Allele and genotype frequencies of *CYP2C9*, *CYP2C19* and *CYP2D6* in an Italian population. **Pharmacological Research**, v. 50, p. 195-200, 2004.

SOBTIA, R. C.; AL-BADRANA, A. I.; SHARMA, S.; SHARMAB, S. K.; KRISHAN, A.; MOHAND, H. Genetic polymorphisms of *CYP2D6*, *GSTM1*, and *GSTT1* genes and bladder cancer risk in North India. **Cancer Genetics And Cytogenetics**, v. 156, p. 68-73, 2005.

SONG, N.; TAN, W.; XING, D.; LIN, D. *CYP1A1* polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 1, p. 11-16, 2001.

STEPHENS, E. A.; TAYLOR, J. A.; KAPLAN, N.; YANG, C. H.; HSIEH, L. L.; LUCIER, G. W.; BELL, D. A. Ethnic variation in the *CYP2E1* gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. **Pharmacogenetics**, v. 4, n. 4, p. 92-185, 1994.

STRANGE, R.C.; FRYER, A.A. The glutathione S-transferases: influence of polymorphism on cancer susceptibility. Em: **Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer**. IARC Scientific Publications. Lyon, v. 148, p. 231-249, 1999.

STUVEN, T.; GRIESE, E. U.; KROEMER, H. K.; EICHELBAUM, M.; ZANGER, U. M. Rapid detection of *CYP2D6* null alleles by long distance- and multiplex-polymerase chain reaction. **Pharmacogenetics**, v.6, n. 5, p. 417-21, 1996.

SWEENEY, C.; MCCLURE, G. Y.; FARES, M. Y.; STONE, A.; COLES, B. F.; THOMPSON, P. A.; KOROURIAN, S.; HUTCHINS, L. F.; KADLUBAR, F. F. AMBROSONE, C. B. Association between survival after treatment for breast cancer and glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism. **Can. Res.**, v. 60, n. 8, p. 5621–5624, 2000.

TAIOLI, E.; TRACHMAN, J.; CHEN, X.; TONIOLO, P.; GARTE, S. J. A *CYP1A1* restriction fragment length polymorphism is associated with breast cancer in African-American women. **Cancer Res.**, v. 55, n. 17, p. 81-3757, 1995.

TAIOLI, E.; FORD, J.; TRACHMAN, J.; LI, Y.; DEMOPOULOS, R.; GARTE, S. Lung cancer risk and *CYP1A1* genotype in African Americans. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 5, p. 7-813, 1998.

TAIOLI, E.; GASPARI, L.; BENHAMOU, S.; BOFFETTA, P.; BROCKMOLLER, J.; BUTKIEWICZ, D.; CASCORBI, I.; CLAPPER, M. L.; DOLZAN, V.; HAUGEN, A.; HIRVONEN, A.; HUSGAFVEL-PURSIAINEN, K.; KALINA, I.; KREMERS, P.; LE MARCHAND, L.; LONDON, S.; RANNUG, A.; ROMKES, M.; SCHOKET, B.; SEIDEGARD, J.; STRANGE, R. C.; STUCKER, I.; TO-FIGUERAS, J.; GARTE, S. Polymorphisms in *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1* and lung cancer below the age of 45 years. **Int. J. Epidemiol.**, v. 32, p. 60-63, 2003

- TAN, W.; SONG, N.; WANG, G. Q.; LIU, Q.; TANG, H. J.; KADLUBAR, F. F.; LIN, D. X. Impact of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferases M1, T1, and P1 on susceptibility to esophageal cancer among high-risk individuals in China. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, n. 9, p. 551-556, 2000.
- TEPSIRI, N.; CHATURAT, L.; SRIPA, B.; NAMWAT, W.; WONGKHAM, S.; BHUDHISAWASDI, V.; TASSANEYAKUL, W. Drug sensitivity and drug resistance profiles of human intrahepatic cholangiocarcinoma cell lines. **World J. Gastroenterol.**, v.11, n. 18, p. 2748-2753, 2005.
- THIER, R.; NING, T. B. R.; ROOS, P. H.; RIHS, H.; GOLKA, K.; KO, Y.; BOLT, H. M. Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: The role of selected CYP, NAT and GST genes. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 206, p. 149-171, 2003.
- THEOPHILUS, N. A.; CHANDRASEKARAN, A.; SAM, S. S.; GERARD, N.; RAJAGOPAL, K. *CYP2D6* genetic polymorphism in South Indian populations. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, n. 8, p. 1655-1658, 2006.
- TORREZAN, G. T. **Estudo dos polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2E1* e *CYP17* em cânceres mamários esporádicos.** 53 p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- TRINZA, Z.; CLAYMAN, G. L.; SPITZ, M. R.; BRIGGS, K. L.; GEOPFERT, H. Glutathione S-transferase genotypes as risk factors for head and neck cancer. **Am. J. Surg.**, v. 170, p. 499-501, 1995.
- TROCK, B. J. Breast cancer in African American women: epidemiology and tumor biology. **Breast Cancer Res.**, v. 40, n. 1, p. 11-24, 1996.
- VAN POPPEL, G.; DE VOGEL, N.; VAN BLADEREN, P. J.; KOK, F. J. Increased cytogenetic damage in smokers deficient in glutathione S-transferase isozyme mu. **Carcinogenesis**, v. 13, p. 303-305, 1992.
- VIANA-FILHO, L. **O Negro na Bahia.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1988.
- VINEIS, P.; MALATS, N.; LANG, M.; D'ERRICO, A.; CAPORASO, N.; CUZICK, J.; BOFFETA, P. Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer. **IARC Scie. Publ.**, n. 148, 1999.
- WALKER, C.L. Cancer susceptibility genes and molecular carcinogenesis. **Mol. Med. Today**, n.2, p. 364-365, 1996.
- WAN, Y. J.; POLAND, R. E.; HAN, G.; KONISHI, T.; ZHENG, Y. P.; BERMAN, N. et al. Analysis of the *CYP2D6* gene polymorphism and enzyme activity in African-Americans in Southern California. **Pharmacogenetics**, v. 11, p 489-99, 2001.
- WANG, A. H.; SUN, C. S.; LI, L. S.; HUANG, J. Y.; CHEN, Q. S. Relationship of tobacco smoking *CYP1A1* *GSTM1* gene polymorphism and esophageal cancer in Xi'an. **World J. Gastroenterol.**, v. 8, p. 49-53, 2002.
- WARD, R. H.; SALZANO, F. M.; BONATTO, S. L.; HUTZ, M. H.; COIMBRA, C. E. A. JR.; SANTOS, R. V. Mitochondrial DNA polymorphism in three Brazilian tribes. **Am. J. Hum. Biol.**, n. 8, p. 317-323, 1996.

- WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, p. 1358-1370, 1984.
- WENNERHOLM, A.; JOHANSSON, I.; HIDESTRAND, M.; BERTILSSON, L.; GUSTAFSSON, L. L.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Characterization of the *CYP2D6*29* allele commonly present in a black Tanzanian population causing reduced catalytic activity. **Pharmacogenetics**, n. 11, p. 417-27, 2001.
- WENZLAFF, A. S.; COTE, M. L.; BOCK, C. H.; LAND, S. J.; SANTER, S. K.; SCHWARTZ, D. R.; SCHWARTZ, A. G. *CYP1A1* and *CYP1B1* polymorphisms and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. **Carcinogenesis**, v. 26, n. 12, p. 2207-2212, 2005.
- WOLF, C. R.; SMITH, C. A. D.; GOUGH, A. C.; MOSS, J. E.; VALLIS, K. A.; HOWARD, G.; GAREY, F. J.; MILLS, K.; MCNEE, W.; CARMICHAEL, J.; SPURR, N. K. Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility. **Carcinogenesis**, v. 13, p. 1035-1038, 1992.
- WOODSON, K.; HAYES, R.; WIDEROFF, L.; VILLARUZ, L.; TANGREA, J. Hypermethylation of *GSTP1*, *CD44*, and E-cadherin genes in prostate cancer among US Blacks and Whites. **Prostate**, v. 15, n. 3, p. 199-205, 2003.
- WRENSCH, M. R.; MIKE, R.; SISON, J. D.; KELSEY, K. T.; LIU, M.; McMILLAN, A.; QUESENBERRY, C.; WIENCKE, J. K. *CYP1A1* variants and smoking-related lung cancer in San Francisco Bay area Latin and African Americans. **Int. J. Cancer**, v.113, n. 1, p. 7-141, 2005.
- WU, X.; SHI, H.; JIANG, H.; KEMP, B.; HONG, W. K.; DELCLOS, G. L.; SPITZ, M. R. Associations between cytochrome *P450E1* genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 5, p. 73-967, 1997.
- WU, X.; AMOS, C. I.; KEMP, B. L.; SHI, H.; JIANG, H.; WAN, Y.; SPITZ, M. R. Cytochrome *P450E1* *DraI* polymorphisms in lung cancer in minority populations. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 7, n. 1, p. 8-13, 1998.
- WU, M. T.; LEE, J. M.; WU, D. C.; HO, C. K.; WANG, Y. T.; LEE, Y. C.; HSU, H. K.; KAO, E. L. Genetic polymorphisms of cytochrome P4501A1 and oesophageal squamous-cell carcinoma in Taiwan. **Br. J. Cancer**, v. 87, p. 529-532, 2002.
- WÜNSCH, V. F.; GATTÁS, G. J. F. Biomarcadores moleculares em câncer: implicações para a pesquisa epidemiológica e a saúde pública. **Cad. Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 467-480. 2001.
- YANG, C. X.; MATSUO, K.; WANG, Z. M.; TAJIMA, K. Phase I/II enzyme gene polymorphisms and esophageal cancer risk: A meta-analysis of the literature. **World J. Gastroenterol.**, v.11, n. 17, p. 2531-2538, 2005.
- YIN, S. N.; HAYES, R. B.; LINET, M. S.; LI, G. L.; DOSEMECI, M.; TRAVIS, L. B.; LI, C. Y.; ZHANG, Z. N.; LI, D. G.; CHOW, W. H.; WACHOLDER, S.; WANG, Y. Z.; JIANG, Z. L.; DAÍ, T. R.; ZHANG, W. Y.; CHAO, X. J.; YE, P. Z.; KOU, Q. R.; ZHANG, X. C.; LIN, X. F.; MENG, J. F.; DING, C. Y.; ZHO, J. S.; BLOT, WJ. A cohort study of cancer among benzene-exposed workers in China: overall results. **Am. J. Ind. Med.**, v. 29, n. 3, p. 227-35, 1996.

YOKOYAMA, A.; KATO, H.; YOKOYAMA, T.; TSUJINAKA, T.; MUTO, M.; OMORI, T.; HANEDA, T.; KUMAGAI, Y.; IGAKI, H.; YOKOYAMA, M.; WATANABE, H.; FUKUDA, H.; YOSHIMIZU, H. Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases and glutathione S-transferase M1 and drinking, smoking, and diet in Japanese men with esophageal squamous cell carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 23, p. 1851-1859, 2002.

ZANGER, U. M.; RAIMUNDO, S.; EICHELBAUM, M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.**, v. 369, n. 1, p. 23-37, 2004.

ZEMBRZUSKI, V. M.; CALLEGARI-JACQUES, S. M.; HUTZ, M. H. Application of an African Ancestry Index as a genomic control approach in a Brazilian population. **Ann. Hum. Genet.**, v. 70, p. 822-828, 2006.

ZHU, K.; HUNTER, S.; PAYNE-WILKS, K.; SUTCLIFFE, C.; BENTLEY, C.; ROLAND, C. L.; WILLIAMS, S. M. Potential differences in breast cancer risk factors based on *CYP1A1 MspI* and African American specific genotypes. **Ethn. Dis.**, v. 16, n. 1, p. 15-207, 2006.

ZIV, E.; BURCHARD, E. G. Human population structure and genetic association studies. **Pharmacogenomics**, v. 4, p. 431-441, 2003.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE <i>CYP1A1*2A</i> DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES.....	102
APÊNDICE 2	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE <i>CYP2D6*4</i> DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES.....	104
APÊNDICE 3	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE <i>CYP2E1*5B</i> DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES.....	105
APÊNDICE 4	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES <i>GSTM1*0</i> E <i>GSTT1*0</i> DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES.....	106
APÊNDICE 5	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE <i>GSTP1*B</i> DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES.....	108
APÊNDICE 6	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DE VARIANTES DOS GENES <i>CYP1A1</i> , <i>CYP2D6</i> E <i>CYP2E1</i> NA POPULAÇÃO BRASILEIRA.....	109
APÊNDICE 7	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES DOS GENES <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> E <i>GSTP1</i> NA POPULAÇÃO BRASILEIRA.....	110
APÊNDICE 8	–	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE VARIANTES DOS GENES DO BIOMETABOLISMO EM AMERÍNDIOS.....	111
APÊNDICE 9	–	CONTRIBUIÇÕES RELATIVAS DE MISTURA PARA AMOSTRAS DE EURO E AFRO-DESCENDENTES PARANAENSES.....	112

APÊNDICE 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE CYP1A1*2A DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

continua

Continuar

População	Nº Total de Indivíduos	Frequências Alélicas	Frequências Genotípicas (Nº de Indivíduos)			Referências
			*1A1A	*1A2A	*2A2A	
Europeus e Euro-descendentes						
Europeus e Euro-descendentes	4.453	0,094	0,824 (3.670)	0,164 (729)	0,012 (54)	GARTE et al. (2001)
Europeus e Euro-descendentes	520	0,104	0,803 (417)	0,186 (97)	0,011 (6)	RAIMONDI et al. (2005)
Europeus e Eurodescendentes	453	0,104	0,804 (364)	0,185 (84)	0,011 (5)	HUNG et al. (2003)
Europeus e Euro-descendentes	419	0,098	0,810 (343)	0,180 (75)	0,002 (1)	TAIOLI et al. (2003)
Poloneses	249	0,071	0,923 (230)	0,072 (18)	0,005 (1)	GAJECKA et al. (2005)
Franceses	210	0,138	0,743 (156)	0,238 (50)	0,019 (4)	LONGUEMAUX et al. (1990)
Euro-americanos	199	0,110	0,792 (158)	0,196 (39)	0,012 (2)	LE MARCHAND et al. (1998)
Euro-americanos	146	0,127	0,770 (116)	0,200 (29)	0,003 (1)	WENZLAFF et al. (2005)
Total e Média	6.657	0,106±0,02				
Africanos e Afro-descendentes						
Afro-americanos	550	0,235	0,590 (325)	0,350 (192)	0,060 (33)	WRENSCH et al. (2005)
Africanos e Afro-descendentes	461	0,239	0,581 (268)	0,360 (166)	0,059 (27)	GARTE et al. (2001)
Afro-americanos	389	0,210	0,624 (243)	0,332 (129)	0,044 (17)	LE MARCHAND et al. (1998)
Total e Média	1.400	0,228±0,014				

APÊNDICE 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE CYP1A1*2A DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

conclusão						
População	Nº Total de Indivíduos	Frequências Alélicas	Frequências Genotípicas (Nº de Indivíduos)			Referências
			*1A1A	*1A2A	*2A2A	
Asiáticos						
Asiáticos	638	0,360	0,420 (268)	0,440 (281)	0,140 (89)	GARTE et al. (2001)
Chineses (Taiwan)	324	0,355	0,420 (136)	0,451 (146)	0,129 (42)	WU et al. (2002)
Japoneses	272	0,425	0,316 (86)	0,511 (139)	0,173 (47)	MIYOSHI et al. (2002)
Japoneses	242	0,362	0,438 (106)	0,401 (97)	0,161 (39)	HORI et al. (1997)
Japoneses	220	0,391	0,373 (82)	0,473 (104)	0,154 (34)	INOUE et al., (2000)
Chineses (Taiwan)	145	0,393	0,365 (53)	0,483 (70)	0,152 (22)	HUANG et al. (1999)
Japoneses	142	0,335	0,437 (62)	0,451 (64)	0,112 (16)	SATO et al. (1999)
Total e Média	1.983	0,374+0,03				

APÊNDICE 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE CYP2D6*4 DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

População	Nº Total de Indivíduos	Frequências Alélicas	Frequências Genotípicas (Nº de Indivíduos)			Referências
			*1A/1A	*1A/4	*4/4	
Europeus e Euro-descendentes						
Euro-americanos	408	0,180	0,672 (274)	0,296 (121)	0,032 (13)	GAEDIGK et al. (2002)
Italianos	360	0,153	0,717 (258)	0,261 (94)	0,022 (8)	SCORDO et al. (2004)
Poloneses	305	0,194	0,626 (191)	0,344 (105)	0,030 (9)	GAJECKA et al. (2005)
Franceses	211	0,197	0,644 (136)	0,318 (67)	0,038 (8)	LONGUEMAUX et al. (1999)
Franceses	171	0,132	0,766 (131)	0,205 (35)	0,029 (5)	LAFOREST et al. (2000)
Espanhóis	105	0,138	0,743 (78)	0,238 (25)	0,019 (2)	MENOYO et al. (2006)
Total e Média	1.560	0,166±0,029				
Africanos e Afro-descendentes						
Afro-americanos	502	0,054	0,894 (449)	0,102 (51)	0,004 (2)	GAEDIGK et al. (2002)
Africanos (Gana)	386	0,070	0,865 (334)	0,130 (50)	0,005 (2)	HUANG et al. (1999)
Afro-americanos	308	0,078	0,851 (262)	0,143 (44)	0,006 (2)	WAN et al. (2001)
Afro-americanos	246	0,073	0,862 (212)	0,134 (33)	0,004 (1)	LEATHART et al. (1998)
Africanos (Tanzânia)	212	0,009	0,972 (206)	0,018 (6)	0,000 (0)	WENNERHOLM et al. (2001)
Total e Média	1.654	0,057±0,027				

APÊNDICE 3 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE CYP2E1*5B DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

População	Nº Total de Indivíduos	Frequências Alélicas	Frequências Genotípicas (Nº de Indivíduos)			Referências
			*1A/1A	*1A/5B	*5B/5B	
Europeus e Euro-descendentes						
Europeus e Euro-descendentes	1.454	0,039	0,924 (1.344)	0,075 (109)	0,001 (1)	GARTE et al. (2001)
Poloneses	323	0,028	0,944 (305)	0,056 (18)	-	GAJECKA et al. (2005)
Total e Média	1.777	0,034+0,01				
Africanos e Afro-descendentes						
Afro-americanos	114	0,068	0,868 (99)	0,127 (14)	0,005 (1)	WU et al. (1997)
Asiáticos						
Asiáticos	719	0,226	0,595 (428)	0,359 (258)	0,046 (33)	GARTE et al. (2001)
Japoneses	633	0,189	0,651 (412)	0,319 (202)	0,030 (19)	HORI et al. (1997)
Chineses	196	0,225	0,617 (121)	0,316 (62)	0,067 (13)	GAO et al. (2002)
Chineses	150	0,304	0,440 (66)	0,513 (77)	0,047 (7)	TAN et al. (2000)
Japoneses	132	0,197	0,644 (85)	0,318 (42)	0,038 (5)	MORITA et al. (1997)
Total e Média	1.830	0,228±0,047				

(-) – Dados não disponíveis;

APÊNDICE 4 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES *GSTM1*0* E *GSTT1*0* DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

continua

População	Nº Total de Indivíduos	Frequências de <i>GSTM1*0</i>	Nº Total de Indivíduos	Frequências de <i>GSTT1*0</i>	Referências
<i>Europeus e Euro-descendentes</i>					
Europeus e Euro-descendentes	10.514	0,531 (5.583)	5.577	0,104 (580)	GARTE et al. (2001)
Europeus e Euro-descendentes	1.981	0,513 (1.016)	1.026	0,186 (191)	RAIMONDI et al. (2005)
Euro-americanos	1.282	0,498 (639)	839	0,168 (141)	TAIOLI et al. (2003)
Finlandeses	478	0,418 (200)	478	0,132 (63)	MITRUNEN et al. (2001)
Islandeses	395	0,542 (214)	395	0,205 (81)	GUDMUNDSDOTTIR et al. (2001)
Euro-americanos	369	0,520 (192)	373	0,164 (61)	MILLIKAN et al. (2000)
Poloneses	321	0,511 (164)	316	0,193 (61)	GAJECKA et al. (2005)
Franceses	211	0,555 (117)	211	0,190 (40)	LONGUEMAUX et al. (1999)
Euro-americanos	168	0,452 (76)	168	0,125 (21)	OLSHAN et al. (2000)
Total e Média	15.719	0,504±0,044	9.383	0,163±0,036	
<i>Africanos e Afro-descendentes</i>					
Africanos e Afro-descendentes	479	0,265 (127)	-	-	GARTE et al. (2001)
Afro-americanos	259	0,278 (72)	259	0,166 (43)	MILLIKAN et al. (2000)
Afro-americanos	120	0,200 (24)	-	-	FORD et al. (2000)
Africanos (Tanzânia)	114	0,333 (38)	114	0,254 (29)	DANDARA et al. (2002)
Total e Média	972	0,269±0,055	373	0,210±0,063	
<i>Asiáticos</i>					
Asiáticos	1.511	0,529 (799)	575	0,470 (270)	GARTE et al. (2001)
Japoneses	634	0,506 (321)	-	-	YOKOYAMA et al. (2002)

APÊNDICE 4 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES *GSTM1*0* E *GSTT1*0* DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

					conclusão
População	Nº Total de Indivíduos	Frequências de <i>GSTM1*0</i>	Nº Total de Indivíduos	Frequências de <i>GSTT1*0</i>	Referências
Japoneses	428	0,458 (196)	-	-	HORI et al. (1997)
Coreanos	181	0,525 (95)	181	0,420 (76)	KANG (2003)
Chineses	150	0,507 (76)	150	0,393 (59)	TAN et al. (2000)
Japoneses	146	0,315 (46)	146	0,349 (51)	KATOH et al. (1999)
Tailandeses	123	0,471 (58)	123	0,431 (53)	HUNG et al. (1997)
Total - Média	3.173	0,473±0,064	1.175	0,413±0,039	

(n) – número de indivíduos; (-) – Dados não disponíveis;

APÊNDICE 5 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DA VARIANTE *GSTP1*B* DE AMOSTRAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES

População	Nº Total de Indivíduos	Frequências Alélicas	Frequências Genotípicas (Nº de Indivíduos)			Referências
			*A/A	*A/B	*B/B	
Europeus e Euro-descendentes						
Europeus e Euro-descendentes	1.138	0,288	0,490 (558)	0,442 (503)	0,068 (77)	GARTE et al. (2001)
Finlandeses	481	0,259	0,553 (266)	0,376 (181)	0,071 (34)	MITRUNEN et al. (2001)
Euro-americanos	408	0,180	0,672 (274)	0,296 (121)	0,032 (13)	GAEDIGK et al. (2002)
Islandeses	395	0,334	0,448 (177)	0,435 (172)	0,117 (46)	GUDMUNDSDOTTIR et al. (2001)
Euro-americanos	368	0,306	0,484 (178)	0,421 (155)	0,095 (35)	MILLIKAN et al. (2000)
Franceses	189	0,310	0,492 (93)	0,397 (75)	0,111 (21)	LONGUEMAUX et al. (1999)
Euro-americanos	168	0,357	0,405 (68)	0,476 (80)	0,119 (20)	OLSHAN et al. (2000)
Italianos	153	0,291	0,503 (77)	0,412 (63)	0,085 (13)	DUFOUR et al.(2005)
Total e Média	3.300	0,291±0,049				
Africanos e Afro-descendentes						
Afro-americanos	247	0,508	0,219 (54)	0,546 (135)	0,235 (58)	MILLIKAN et al. (2000)
Asiáticos						
Chineses (Taiwan)	254	0,207	0,630 (160)	0,327 (83)	0,043 (11)	LEE et al. (2000)
Coreanos	171	0,187	0,661 (113)	0,304 (52)	0,035 (6)	KIM et al. (2004)
Japoneses	164	0,165	0,689 (113)	0,293 (48)	0,018 (3)	MORITA et al. (1998)
Chineses	150	0,217	0,607 (91)	0,353 (53)	0,040 (6)	TAN et al. (2000)
Total - Média	739	0,194±0,018				

APÊNDICE 6 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DE VARIANTES DOS GENES *CYP1A1*, *CYP2D6* E *CYP2E1* NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Região	Nº Total de Indivíduos	Freq. de <i>CYP1A1</i> * 2A	Freq. Genotípica de <i>CYP1A1</i>			Freq. de <i>CYP2D6</i> * 4	Freq. Genotípica de <i>CYP2D6</i>			Freq. de <i>CYP2E1</i> * 5B	Freq. Genotípica de <i>CYP2E1</i>			Referência
			*1A/1A	*1A/2A	*2A/2A		*1A/1A	*1A/4	*4/4		*1A/1A	*1A/5B	*5B/5B	
Euro-brasileiros														
Sul (Rio Grande do Sul)	90	0,173	0,711 (64)	0,233 (21)	0,056 (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	KVITKO et al. (2006)
Sul (Paraná)	85	0,106	0,800 (68)	0,188 (16)	0,012 (1)	0,188	0,694 (59)	0,235 (20)	0,071 (6)	-	-	-	-	OLIVEIRA (2006)
Sul (Paraná)	66	-	-	-	-	-	-	-	-	0,061	0,879 (58)	0,121 (8)	-	TORREZAN (2006)
Sudeste (Rio de Janeiro)	151	-	-	-	-	-	-	-	-	0,069	0,874 (132)	0,113 (17)	0,013 (2)	ROSSINI et al (2006)
Sudeste (São Paulo)	206	-	-	-	-	-	-	-	-	0,319	0,464 (96)	0,434 (89)	0,102 (21)	GATTÁS e SOARES VIEIRA (2000)
Afro-brasileiros														
Sul (Rio Grande do Sul)	100	0,305	0,470 (47)	0,450 (45)	0,080 (8)	-	-	-	-	-	-	-	-	KVITKO et al. (2006)
Sudeste (Rio de Janeiro)	138	-	-	-	-	-	-	-	-	0,029	0,949 (131)	0,044 (6)	0,007 (1)	ROSSINI et al (2006)
Sudeste (São Paulo)	86	-	-	-	-	-	-	-	-	0,056	0,887 (76)	0,113 (10)	-	GATTÁS e SOARES VIEIRA (2000)

(n) – número de indivíduos; (-) – Dados não disponíveis;

APÊNDICE 7 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES DOS GENES *GSTM1*, *GSTT1* E *GSTP1* NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Região	Nº Total de Indivíduos	Freq. Genotípica de <i>GSTM1</i>		Freq. Genotípica de <i>GSTT1</i>		Freq. de <i>GSTP1</i> *B	Freq. Genotípica de <i>GSTP1</i>			Referência
		<i>GSTM1</i> +	<i>GSTM1</i> *0	<i>GSTT1</i> +	<i>GSTT1</i> *0		*A/A	*A/B	*B/B	
<i>Euro-brasileiros</i>										
Sudeste (São Paulo)	130	0,450 (58)	0,550 (72)	0,815 (106)	0,185 (24)	-	-	-	-	ARRUDA et al. (1998)
Sudeste (São Paulo)	233	0,446(104)	0,554 (129)	0,777 (181)	0,223 (52)	-	-	-	-	GATTÁS et al. (2004)
Sul (Paraná)	95	0,463 (44)	0,537 (51)	0,705 (67)	0,295 (28)	-	-	-	-	TORREZAN (2006)
Sul (Paraná)	85	-	-	-	-	0,330	0,482 (41)	0,376 (32)	0,142 (12)	OLIVEIRA (2006)
Sudeste (Rio de Janeiro)	319	0,511 (163)	0,489 (156)	0,749 (239)	0,251 (80)	0,315	0,514 (164)	0,342 (109)	0,144 (46)	ROSSINI et al. (2002)
Sul (Rio Grande do Sul)	90	0,500 (45)	0,500 (45)	0,789 (71)	0,211 (19)	0,278	0,522 (47)	0,400 (36)	0,078 (7)	KVITKO et al. (2006)
<i>Afro-brasileiros</i>										
Nordeste (Bahia)	117	0,670 (78)	0,330 (39)	0,810 (95)	0,190 (22)	-	-	-	-	ARRUDA et al. (1998)
Sudeste (São Paulo)	137	0,672 (92)	0,328 (45)	0,737 (101)	0,263 (36)	-	-	-	-	GATTÁS et al. (2004)
Sudeste (Rio de Janeiro)	272	0,658 (179)	0,342 (93)	0,743 (202)	0,257 (70)	0,309	0,478 (130)	0,426 (116)	0,096 (26)	ROSSINI et al. (2002)
Sul (Rio Grande do Sul)	100	0,660 (66)	0,340 (34)	0,720 (72)	0,280 (28)	0,420	0,290 (29)	0,580 (58)	0,130 (13)	KVITKO et al. (2006)

(n) – número de indivíduos; (-) – Dados não disponíveis;

APÊNDICE 8 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE VARIANTES DOS GENES DO BIOMETABOLISMO EM AMERÍNDIOS

Tribo (País - Região)	Nº de Indivíduos	CYP1A1*2A	CYP2D6*4	CYP2E1*5B	GSTM1*0	GSTT1*0	Referência
Mapuche (Chile)	84	0,821	0,036	-	-	-	MUNOZ et al. (1998)
Parakanã (Brasil - Norte)	79	-	-	-	0,200	0,110	ARRUDA et al. (1998)
Aché (Paraguai)	67	1,000	-	0,425	0,358	0,179	GASPAR et al. (2002b)
Guarani (Brasil - Centroeste)	51	0,961	-	0,186	0,039	0,118	
Xavante (Brasil - Centroeste)	33	0,950	-	0,030	0,182	0,303	
Gavião (Brasil - Norte)	31	0,720	-	0,290	0,129	0,065	
Zoró (Brasil - Norte)	28	0,870	-	0,321	0,143	0,143	
Wai Wai (Brasil - Norte)	26	0,810	-	0,019	0,269	-	
Surui (Brasil - Norte)	21	0,960	-	0,333	0,430	0,430	

(-) – Dados não disponíveis;

APÊNDICE 9 – CONTRIBUIÇÕES RELATIVAS DE MISTURA PARA AMOSTRAS DE EURO E AFRO-DESCENDENTES PARANAENSES

Trabalhos	Europeu (%)	Africano (%)	Ameríndio (%)
<i>Euro-descendentes</i>			
PROBST et al. (2000)	79	14	7
BRAUN-PRADO et al. (2000)	94	3	3
PROBST (2000)	85	10	5
Presente Estudo	75	17	8
<i>Afro-descendentes</i>			
CULPI e SALZANO (1984)	49	51	0
PROBST et al. (2000)	49	42	9
BRAUN-PRADO et al. (2000)	51	46	3
PROBST (2000)	29	61	10
Presente Estudo	40	39	21

ANEXOS