República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0610065-1 A2**

* B R P I 0 6 1 0 0 6 5 A 2 *

(22) Data de Depósito: 19/05/2006
(43) Data da Publicação: 25/05/2010
(RPI 2055)

(51) Int.Cl.:
C12Q 1/68

(54) Título: **MÉTODO E KIT DE DETERMINAÇÃO DO RISCO DE UM INDIVÍDUO DE DESENVOLVER CÂNCER DE PULMÃO, SONDA DE NUCLEOTÍDEO E/OU INICIADORES, MICROARRANJO DE ÁCIDO NUCLÉICO, MÉTODO PARA SELEÇÃO DE COMPOSTOS QUE MODULAM A EXPRESSÃO E/OU ATIVIDADE DE UM GENE, E MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA PROVÁVEL RESPONSIVIDADE DE UM INDIVÍDUO A UM TRATAMENTO PROFILÁTICO OU TERAPÊUTICO**

(30) Prioridade Unionista: 19/05/2005 NZ 540203, 11/08/2005 NZ 541787, 28/10/2005 NZ 543297

(73) Titular(es): SYNERGENZ BIOSCIENCE LIMITED

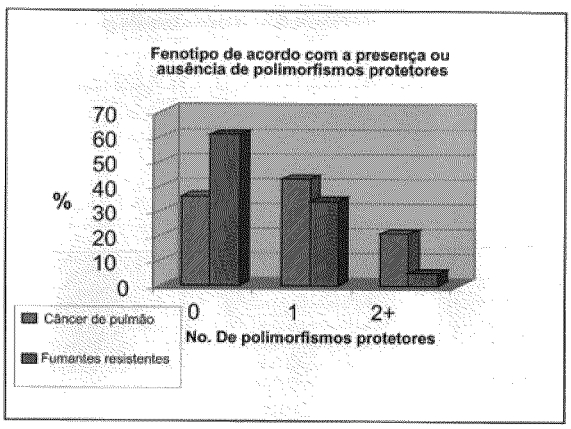
(72) Inventor(es): ROBERT PETER YOUNG

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT NZ2006000125 de 19/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO WO 2006/123955de 23/11/2006

(57) Resumo: MÉTODO E KIT DE DETERMINAÇÃO DO RISCO DE UM INDIVÍDUO DE DESENVOLVER CÂNCER DE PULMÃO, SONDA DE NUCLEOTÍDEO E/OU INICIADORES, MICROARRANJO DE ÁCIDO NUCLÉICO, MÉTODO PARA SELEÇÃO DE COMPOSTOS QUE MODULAM A EXPRESSÃO E/OU ATIVIDADE DE UM GENE, E MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA PROVÁVEL RESPONSIVIDADE DE UM INDIVÍDUO A UM TRATAMENTO PROFILÁTICO OU TERAPÊUTICO. A presente invenção refere-se a métodos para a avaliação do risco de desenvolver câncer de pulmão em fumantes e não fumantes usando análise de polimorfismos genéticos. A presente invenção também refere-se ao uso de polimorfismos genéticos na avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão. Sondas de nucleotideo e primers, kits e microarranjos adequados para tal avaliação também são proporcionados.



Pat 0200800091 57
PI 0610065-1

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE PULMÃO USANDO ANÁLISE DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS".**

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a métodos para avaliação de função e/ou distúrbios pulmonares e, em particular, para avaliação do risco de desenvolvimento de câncer de pulmão em fumantes e não-fumantes usando análise de polimorfismos genéticos e expressão de gene alterada.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Câncer de pulmão é o segundo câncer mais comum e tem sido atribuído primariamente ao fumo de cigarros. Outros fatores que contribuem para o desenvolvimento de câncer de pulmão incluem exposição ocupacional, fatores genéticos, exposição a radônio, exposição a outros aeropoluentes e possivelmente fatores dietéticos (Alberg AJ et al., 2003). Estima-se que não-fumantes tenham um risco de um em 400 de câncer de pulmão (0,25%). O fumo aumenta o risco em aproximadamente 40 vezes, de modo que fumantes têm um risco de um em 10 de câncer de pulmão (10%) e, em fumantes a longo prazo, o risco de câncer de pulmão ao longo da vida foi reportado como sendo tão alto quanto 10-15% (Schwartz AG. 2004). Acredita-se que fatores genéticos exerçam alguma parte, conforme evidenciado por uma fraca tendência familial (entre fumantes) e o fato de que apenas a minoria dos fumantes têm câncer de pulmão. Em geral, é aceito que a maior parte dessa tendência genética se origina de polimorfismos de alta freqüência de baixa penetração, isto é, polimorfismos os quais são comuns na população geral que, no contexto de exposição crônica ao fumo, contribuem coletivamente para o desenvolvimento de câncer (Schwartz AG. 2004, Wu X et al., 2004). Vários estudos epidemiológicos reportaram que a função pulmonar deficiente (Anthonisen NR. 1989, Skillrud DM. 1986, Tockman MS et al., 1987, Kuller LH et al., 1990, Nomura A et al., 1991) ou sintomas de doença pulmonar obstrutiva (Mayne ST et al., 1999) são fatores de risco independentes para câncer de pulmão e são, possivelmente, mais relevantes do que a dose de exposição ao fumo.

A despeito dos avanços no tratamento de doenças das vias aéreas, terapias atuais não alteram significativamente a história natural do câncer de pulmão, a qual pode incluir metástase e perda progressiva de função pulmonar, causando insuficiência respiratória e morte. Embora possa ser esperado que parar de fumar reduza esse declínio na função pulmonar, é provável que, se isso não é obtido em um estágio precoce, a perda é considerável e sintomas de piora da dispnéia provavelmente não podem ser evitados. Análogo à descoberta de colesterol no soro e sua relação com a doença da artéria coronária, há uma necessidade de compreender melhor os fatores que contribuem para o câncer de pulmão, de modo que testes que identificam indivíduos em risco possam ser desenvolvidos e que novos tratamentos possam ser descobertos para reduzir os efeitos adversos de câncer de pulmão. O diagnóstico precoce de câncer de pulmão ou de uma propensão em desenvolver câncer de pulmão possibilita que uma faixa mais ampla de tratamentos profiláticos ou terapêuticos seja empregada do que pode ser empregado no tratamento de câncer de pulmão em estado tardio. Também é mais provável que tal tratamento profilático ou terapêutico precoce tenha sucesso, obtenha remissão, melhore a qualidade de vida e/ou aumente a expectativa de vida.

Até o momento, uma série de biomarcadores úteis no diagnóstico e avaliação da propensão de desenvolver vários distúrbios pulmonares foram identificados. Esses incluem, por exemplo, polimorfismos em um único nucleotídeo, incluindo os seguintes: A-82G no protomor do gene que codifica a elastase de macrófago humano (MMP12); T→C dentro do códon 10 do gene que codifica o fator beta de crescimento de transformação (TGFß); C+760G do gene que codifica dismutase de superóxido 3 (SOD3); T-1296C dentro do promotor do gene que codifica o inibidor tecidual de metaloproteinase 3 (TIMP3); e polimorfismos no desequilíbrio de ligação com esses polimorfismos, conforme descrito no Pedido Internacional PCT PCT/NZ02/00106 (publicado como WO 02/099134 e incorporado aqui em sua totalidade).

Seria desejável e vantajoso ter biomarcadores adicionais os

quais poderiam ser usados para avaliar o risco de um indivíduo de desenvolver distúrbios pulmonares, tal como câncer de pulmão, ou um risco de desenvolver função pulmonar deficiente relacionada ao câncer de pulmão, particularmente se o indivíduo é um fumante.

É primariamente a tais biomarcadores e seu uso em métodos para avaliar o risco de desenvolver tais distúrbios que a presente invenção é dirigida.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é primariamente baseada na descoberta de que determinados polimorfismos são encontrados mais freqüentemente com câncer de pulmão do que em indivíduos de controle. Análise desses polimorfismos revela uma associação entre polimorfismos e o risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

Assim, de acordo com um aspecto, é proporcionado um método de determinação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão compreendendo análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina de ligação à manose 2 (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R); ou

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

em que a presença ou ausência de um ou mais dos referidos polimorfismos é indicativa do risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

Um ou mais polimorfirmos podem ser detectados diretamente ou através de detecção de um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com os referidos um ou mais polimorfismos.

Desequilíbrio de ligação (LD) é um fenômeno em genética pelo qual duas ou mais mutações ou polimorfismos estão em proximidade genética íntima tal que eles são co-herdados. Isso significa que, em genotipificação, detecção de um polimorfismo como presente infere a presença do outro (Reich DE et al.; Linkage disequilibrium in the human genome, Nature 2001, 411: 199-204).

O método pode, adicionalmente, compreender análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença de um ou mais de outros polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

Arg 399 Gln G/A no gene de complementação de reparo raios-X-defectivo em hâmster Chinês 1 (XRCC1);

-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);

A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);

-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);

-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);

-751 G/T no promotor do gene do grupo D de complementação (XPD) de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);

Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);

Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);

1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);

C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;

GSTM null no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);
-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase da matriz 1 (MMP1);
Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);
Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1; ou
Asp 148 Glu G/T no gene que codifica nuclease Apex (APE1).

Novamente, detecção de um ou mais de outros polimorfismos pode ser realizada diretamente ou através de detecção de polimorfismos em desequilíbrio de ligação com o um ou mais de outros polimorfismos.

A presença de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;
o genotipo Arg 312 Gl2 CG ou GG no gene que codifica SOD3;
o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;
o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;
o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;
o genotipo de íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;
o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R;
o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;
o genotipo -251 AA no gene que codifica IL-8;
o genotipo Arg 399 Gln AA no gene XRCC1 ;
o genotipo A870G GG no gene que codifica CCND1;
o genotipo -751 GG no promotor do gene XPD ;
o genotipo Ile 462 Val AG ou GG no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo Ser 326 Cys GG no gene que codifica OGG1; ou
o genotipo Phe 257 Ser CC no gene que codifica REV1
pode ser indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

A presença de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;

o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;
o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF;
o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
o genotipo -511 GG no gene que codifica IL-1B;
o genotipo A-670G AA no gene que codifica FAS;
o genotipo Arg 197 Gln GG no gene que codifica NAT2;
o genotipo Ile462 Val AA no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo 1019 G/C Pst I CC ou CG no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo C/T Rsa I TT ou TC no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo GSTM null no gene que codifica GSTM;
o genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
o genotipo Gln 185 Glu CC no gene que codifica NBS1; ou
o genotipo Asp 148 Glu GG no gene que codifica APE1;
pode ser indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

Os métodos da invenção são particularmente úteis em fumantes (atuais e anteriores).

Será apreciado que os métodos da invenção identificam duas categorias de polimorfismos - isto é, aqueles associados a um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão (os quais podem ser denominados "polimorfismos protetores") e aqueles associados a um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão (os quais podem ser denominados "polimorfismos de suscetibilidade").

Portanto, a presente invenção ainda proporciona um método de avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, o referido método compreendendo:
determinação da presença ou ausência de pelo menos um polimorfismo protetor associado a um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão; e

na ausência de pelo menos um polimorfismo protetor, determinação da presença ou ausência de pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade associado a um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão;

em que a presença de um ou mais dos referidos polimorfismos protetores é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão e a ausência de pelo menos um polimorfismo protetor em combinação com a presença de pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

De preferência, o referido pelo menos um polimorfismo protetor é selecionado do grupo consistindo em:

o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;

o genotipo Arg 312 Gl2 CG ou GG no gene que codifica SOD3;

o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;

o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;

o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;

o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;

o genotipo de íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;

o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R;

o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;

o genotipo -251 AA no gene que codifica IL-8;

o genotipo Arg 399 Gln AA no gene XRCC1 ;

o genotipo A870G GG no gene que codifica CCND1;

o genotipo -751 GG no promotor do gene XPD ;

o genotipo Ile 462 Val AG ou GG no gene que codifica CYP1A1;

o genotipo Ser 326 Cys GG no gene que codifica OGG1; ou

o genotipo Phe 257 Ser CC no gene que codifica REV1.

O pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade pode ser selecionado do grupo consistindo em:

o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;

o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;

o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF;
o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
o genotipo -511 GG no gene que codifica IL-1B;
o genotipo A-670G AA no gene que codifica FAS;
o genotipo Arg 197 Gln GG no gene que codifica NAT2;
o genotipo Ile462 Val AA no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo 1019 G/C Pst I CC ou CG no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo C/T Rsa I TT ou TC no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo GSTM null no gene que codifica GSTM;
o genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
o genotipo Gln 185 Glu CC no gene que codifica NBS1; ou
o genotipo Asp 148 Glu GG no gene que codifica APE1.

Em uma forma preferida da invenção, a presença de dois ou mais polimorfismos protetores é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Em uma outra forma preferida da invenção, a presença de dois ou mais polimorfismos de suscetibilidade é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

Em ainda uma outra forma preferida da invenção, a presença de dois ou mais polimorfismos protetores, a despeito da presença de um ou mais polimorfismos de suscetibilidade é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Em outro aspecto, a invenção proporciona um método de determinação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, o referido método compreendendo obtenção do resultado de um ou mais testes genéticos de uma amostra do referido indivíduo e análise do resultado com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase de óxido nítrico 3

(NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina de ligação à manose 2 (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10); ou

um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos;

em que um resultado indicando a presença ou ausência de um ou mais dos referidos polimorfismos é indicativo do risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

Em um outro aspecto, é proporcionado um método de determinação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão compreendendo a análise de dois ou mais polimorfismos selecionado do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica NOS3;

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica SOD3;

-251 A/T no gene que codifica IL-8;

Ala 15 Thr no gene que codifica ACT;

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica MMP12;
105 A/C no gene que codifica IL-18;
-133 G/C no promotor do gene que codifica IL-18;
874 A/T no gene que codifica IFNYγ;
Arg 399 Gln G/A no gene XRCC1;
A870G no gene que codifica CCND1;
-511 A/G no gene que codifica IL-1B;
-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);
-751 G/T no promotor do gene XPD;
Ile 462 Val A/G no gene que codifica CYP1A1;
Ser 326 Cys G/C no gene que codifica OGG1;
Arg 197 Gln A/G no gene que codifica NAT2;
1019 G/C Pst I no gene que codifica CYP2E1;
C/T Rsa I no gene que codifica CYP2E1;
GSTM null no gene que codifica GSTM;
-765 C/G no promotor do gene que codifica COX2;
-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
-447 G/C no gene que codifica CTGF;
-221 C/T no gene que codifica MUC5AC;
+161 G/A no gene que codifica MBL2;
íntron 1 C/T no gene que codifica Arg1;
Leu 252 Val C/G no gene que codifica IGF2R;
-1082 A/G no gene que codifica IL-10;
Gln 185 Glu G/C no gene que codifica NBS1;
Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;
Asp 148 Glu G/T no gene que codifica APE1; ou
um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 298 do gene que codifica NOS3.

A presença de glutamato na referida posição é indicativa de um

risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

A presença de asparagina na referida posição é indicativa de risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 312 no gene que codifica SOD3.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 15 no gene que codifica ACT.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 357 no gene que codifica MMP12.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 399 no gene XRCC1.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 462 no gene que codifica CYP1A1.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 326 no gene que codifica OGG1.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 197 no gene que codifica NAT2.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 185 no gene que codifica NBS1.

A presença de glutamina na referida posição é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 257 no gene que codifica REV1.

A presença de serina na referida posição é indicativa de risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 252 no gene que codifica IGF2R.

A presença de valina na referida posição é indicativa de risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Em várias modalidades, qualquer um ou mais dos métodos acima compreende a etapa de análise do aminoácido presente, em um mapeamento de posição, no códon 148 no gene que codifica APE1.

A presença de glutamato na referida posição é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

Em uma forma preferida da invenção o métodos, conforme descrito aqui, é realizado em conjunto com uma análise de um ou mais fatores de risco, incluindo um ou mais fatores de risco epidemiológicos, associados a um risco de desenvolver câncer de pulmão. Tais fatores de risco epidemiológicos incluem, mas não estão limitados a, fumo ou exposição à fumaça de tabaco, idade, sexo e história familial de câncer de pulmão.

Em um outro aspecto, a invenção proporciona o uso de pelo menos um polimorfismo na avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, em que o referido pelo menos um polimorfismo é selecionado do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina de ligação à manose 2 (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10); ou

um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um dos referidos polimorfismos.

Opcionalmente, o referido uso pode ser em conjunto com o uso de pelo menos um outro polimorfismo selecionado do grupo consistindo em:

Arg 399 Gln G/A na complementação de reparo de raios-X defectiva no gene de hâmster Chinês 1 (XRCC1);

-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);

A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);

-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);

-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);

-751 G/T no promotor do Gene do grupo D de complementação (XPD) de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);

Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);

Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);

1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);

C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;

GSTM null no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);

-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase da matriz 1 (MMP1);

Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);

Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;

Asp 148 Glu G/T no gene que codifica nuclease Apex (APE1);

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

Em outro aspecto, a invenção proporciona um conjunto de sondas e/ou primers para uso nos métodos preferidos da invenção aqui descrita. De preferência, as sondas e/ou primers de nucleotídeo são aqueles os quais abrangem ou são capazes de ser usados para abranger as regiões polimórficas dos genes. Também proporcionados são uma ou mais sondas e/ou primers de nucleotídeo compreendendo a seqüência de qualquer uma das sondas e/ou primers aqui descritos, incluindo qualquer um compreendendo a seqüência de qualquer uma de SEQ.ID.NO. 1 a 145, mais preferivelmente qualquer uma de SEQ.ID.NO. 3 a 142.

Em ainda um outro aspecto, a invenção proporciona um microarranjo de ácido nucléico para uso nos métodos da invenção, microarranjo o qual compreende um substrato apresentando seqüências de ácido nucléico capazes de hibridização às seqüências de ácido nucléico que codificam um ou mais dos polimorfismos de suscetibilidade ou protetores descritos aqui ou seqüências complementares às mesmas.

Em outro aspecto, a invenção proporciona um microarranjo de anticorpo para uso nos métodos da invenção, microarranjo o qual compreende um substrato apresentado anticorpos capazes de se ligar a um produto de expressão de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor, conforme descrito aqui.

Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão compreendendo a etapa de replicação, genotípica ou fenotipicamente, da presença e/ou efeito funcional de um polimorfismo protetor no referido indivíduo.

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão, o referido indivíduo tendo um polimorfismo de suscetibilidade detectável o qual super-regula ou sub-regula expressão

de um gene, de modo que a concentração fisiologicamente ativa do produto do gene expresso está fora de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo, o referido método compreendendo a etapa de restauração da concentração fisiologicamente ativa do referido produto de expressão de gene para estar dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo.

Em um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genotipo AA no polimorfismo 105 C/A no gene que codifica IL-18 tenha sido determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de aumentar a atividade de IL-18 no referido indivíduo.

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genotipo CC no polimorfismo −133 G/C no promotor do gene que codifica IL-18 tenha sido determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de aumentar a atividade de IL-18 no referido indivíduo.

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para seleção de compostos que modulam a expressão e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor, o referido método compreendendo as etapas de:

contato do composto candidato com uma célula compreendendo um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor o qual tenha sido determinado como estando associado à super-regulação ou sub-regulação de expressão de um gene; e

medição da expressão do referido gene após contato com o referido composto candidato,

em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de contato, quando comparado com antes da etapa de contato, é indicativa de capaci-

dade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

De preferência, a referida célula é uma célula pulmonar humana a qual tenha sido pré-selecionada para confirmar a presença do referido polimorfismo.

De preferência, a referida célula compreende um polimorfismo de suscetibilidade associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais sub-regulam a expressão do referido gene.

Alternativamente, a referida célula compreende um polimorfismo de suscetibilidade associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais super-regulam a expressão do referido gene.

Em outra modalidade, a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais super-regulam adicionalmente a expressão do referido gene.

Alternativamente, a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais sub-regulam adicionalmente a expressão do referido gene.

Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para seleção de compostos que modulam a expressão e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor, o referido método compreendendo as etapas de:

contato de um composto candidato com uma célula compreendendo um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor, mas referida célula na qual a expressão do qual não é super-regulada nem sub-regulada; e

medição da expressão do referido gene após contato com o referido composto candidato,

em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de contato,

quando comparado com antes da etapa de contato, é indicativa da capacidade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

De preferência, expressão do gene é sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade, uma vez que a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

De preferência, a referida célula é uma célula pulmonar humana a qual tenha sido pré-selecionada para confirmar a presença e o nível de linha de base de expressão do referido gene.

Alternativamente, expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade e a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

Em outra modalidade, expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo protetor e a referida seleção é por compostos os quais, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

Alternativamente, expressão do gene é sub-regulada quando associada com um polimorfismo protetor e a referida seleção é por compostos os quais, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de avaliação da provável responsividade de um indivíduo em risco de desenvolver ou sofrer de câncer de pulmão a um tratamento profilático ou terapêutico, tratamento o qual envolver restauração da concentração fisiologicamente ativa de um produto de expressão de gene para estar dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo, método o qual compreende detecção, no referido indivíduo, da presença ou ausência de um polimorfismo de suscetibilidade o qual, quando presente, super-regula ou sub-regula a expressão do referido gene, de modo que a concentração fisiologicamente ativa do produto de gene expresso esteja fora da referida faixa normal, em que a detecção da presença do referido polimorfismo é indicativa da probabilidade do indivíduo de responder ao referido tratamento.

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genotipo GG no polimorfismo -765 C/G presente no promotor do gene que codifica COX2 tenha sido determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de reduzir a atividade de COX2 no referido indivíduo.

Em uma modalidade, o referido agente é um inibidor de COX2 ou um fármaco antiinflamatório não esteroidal (NSAID), de preferência o referido inibidor de COX2 é selecionado do grupo consistindo em Celebrex (Celecoxib), Bextra (Valdecoxib) e Vioxx (Rofecoxib).

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer para o qual a presença do genotipo 2G2G no polimorfismo -1607 1G/2G no promotor do gene que codifica MMP1 tenha sido determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de reduzir a atividade de MMP1 no referido indivíduo.

Em uma modalidade, o referido agente é um agente capaz de aumentar a expressão de ou a atividade de um ou mais inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), de preferência a expressão ou atividade de uma ou mais de TIMP1, TIMP2, TIMP3 ou TIMP4. Em ainda uma outra modalidade, o referido agente é um agente capaz de reduzir a expressão de ou a atividade de uma ou mais MMPs ligadas à membrana. Em ainda uma outra modalidade, o referido agente é um inibidor de MMP, de preferência o referido inibidor de MMP é selecionado do grupo consistindo em ácido 4,5-dihidroxiantraquinona-2-carboxílico (AQCA), antraquinil-mercaptoetilamina, hidroxamato de antraquinil-alanina e derivados dos mesmos.

Em um outro aspecto, a presente invenção proporciona um kit para avaliar o risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, o referido kit compreendendo um meio para analisar uma amostra do referido indivíduo com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos

descritos aqui.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A **figura 1:** representa um gráfico mostrando o percentual de pessoas com câncer de pulmão plotado contra o número de polimorfismos protetores.

A **figura 2:** representa um gráfico mostrando o percentual de pessoas com câncer de pulmão plotado contra o número de polimorfismos de suscetibilidade.

A **figura 3:** representa um gráfico mostrando a freqüência de polimorfismos protetores em fumantes com câncer de pulmão e em fumantes resistentes.

A **figura 4:** representa um gráfico mostrando a freqüência de polimorfismos de suscetibilidade em fumantes com câncer de pulmão e em fumantes resistentes.

DESCRIÇÃO DAS MODALIDADES PREFERIDAS

Usando caso-controle, estudos das freqüências de diversas variantes genéticas (polimorfismos) de genes candidatos em fumantes que desenvolveram câncer de pulmão e controles doadores de sangue foram comparados. A maioria desses genes candidatos confirmaram (ou provavelmente) efeitos funcionais sobre a expressão de gene ou função de proteína. Especificamente, as freqüências de polimorfismos entre controles doadores de sangue, fumantes resistentes e aqueles com câncer de pulmão (subdivididos naqueles com início precoce e aqueles com início normal) foram comparadas. A presente invenção demonstra que existem polimorfismos protetores e de suscetibilidade presentes em genes candidatos selecionados dos pacientes testados.

Em uma modalidade descrita aqui, 19 polimorfismos genéticos de suscetibilidade e 17 polimorfismo genéticos protetores são identificados. Esses são como segue:

Gene	Polimorfismo	Papel
Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3)	NOS3 Asp 298 Glu	TT protetor

Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3)	NOS3 -786 T/C	TT de suscetibilidade
Dismutase de superóxido 3 (SOD3)	SOD3 Arg 312 Gln	CG/GG protetor
XRCC1	XRCC1 Arg 399 Gln G/A	AA protetor
Interleucina-8 (IL-8)	IL-8 -251 A/T	AA protetor
Anti-quimiotripsina (ACT)	ACT Ala 15 Thr	GG de suscetibilidade
Ciclina D (CCND1)	CCND1 A870G	GG protetor AA de suscetibilidade
Interleucina 1B (IL-1B)	IL-1B -511 A/G	GG de suscetibilidade
FAS (Apo-1/CD95)	FAS A-670G	AA de suscetibilidade
XPD	XPD -751 G/T	GG protetor
CYP 1A1	CYP 1A1 Ile 462 Val A/G	GG/AG protetor AA de suscetibilidade
Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12)	MMP12 Asn 357 Ser A/G	GG/AG protetor
glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1)	OGG1 Ser 326 Cys G/C	GG protetor
N-acetiltransferase 2 (NAT2)	NAT2 Arg 197 Gln A/G	GG de suscetibilidade
CYP2E1	CYP2E1 1019 G/C Pst I	CC/CG de suscetibilidade
CYP2E1	CYP2E1 C/T Rsa I	TT/TC de suscetibilidade
Interleucina -18 (IL-18)	IL-18 105 A/C	AC/CC protetor AA de suscetibilidade
Interleucina -18 (IL-18)	IL-18 -133 G/C	CG/GG protetor CC de suscetibilidade
S-transferase M de glutationa	GSTM null	Null de suscetibilidade
Interferon gama (IFNYγ)	IFNYγ 874 A/T	AA de suscetibilidade
Ciclooxigenase 2 (COX2)	COX2 -765 C/G	CC/CG protetor

		GG de suscetibilidade
Metaloproteinase da matriz 1 (MMP1)	MMP1 -1607 1G/2G	2G de suscetibilidade
Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF)	CTGF -447 G/C	GC/CC de suscetibilidade
Mucina 5AC (MUC5AC)	MUC5AC -221 C/T	TT protetor
Lectina de ligação à manose 2 (MBL2)	MBL2 +161 G/A	AG/AA de suscetibilidade
Nibrina (NBS1)	NBS1 Gln185Glu G/C	CC de suscetibilidade
Arginase 1 (Arg1)	Arg1 íntron 1 C/T	TT protetor
REV1	REV1 Phe257Ser C/T	CC protetor
Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R)	IGF2R Leu252Val C/G	GG protetor
nuclease Apex (Apex or APE1))	Apex Asp148Glu G/T	GG de suscetibilidade
Interleucina 10 (IL-10)	IL-10 -1082 A/G	GG protetor

Um polimorfismo genético de suscetibilidade é um o qual, quando presente, é indicativo de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão. Em contraste, um polimorfismo genético protetor é um o qual, quando presente, é indicativo de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

Conforme usado aqui, a frase "risco de desenvolver câncer de pulmão" significa a probabilidade de que um indivíduo, ao qual o risco se aplica, de desenvolver câncer de pulmão e inclui pré-disposição a e início potencial da doença. Conseqüentemente, a frase "risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão" significa que um indivíduo tendo tal risco aumentado possui uma inclinação hereditária ou tendência de desenvolver câncer de pulmão. Isso não significa que tal pessoa realmente desenvolva câncer de pulmão a qualquer momento, meramente que ela tem uma maior probabilidade de desenvolver câncer de pulmão comparado com a população geral de indivíduos que não possuem um polimorfismo associado a câncer de pulmão aumentado ou possuem um polimorfismo associado a um risco diminuído de câncer de pulmão. Indivíduos com um risco aumentado

de desenvolver câncer de pulmão incluem aqueles com uma pré-disposição ao câncer de pulmão, tal como uma tendência ou predileção, a despeito de sua função pulmonar no momento de avaliação, por exemplo, um indivíduo que é geneticamente inclinado a câncer de pulmão, mas que tem função pulmonar normal, aquele em risco potencial, incluindo indivíduos com uma tendência à função pulmonar moderadamente reduzida que têm probabilidade de sofrer câncer de pulmão se eles mantêm o fumo e indivíduos com início potencial de câncer de pulmão, que têm uma tendência de pobre função pulmonar quando de espirometria, etc., consistente com câncer de pulmão no momento de avaliação.

Similarmente, a frase "risco diminuído de desenvolver câncer de pulmão" significa que um indivíduo tendo tal risco diminuído possui uma relutância hereditária ou tendência reduzida de desenvolver câncer de pulmão. Isso não significa que tal pessoa não desenvolverá câncer de pulmão a qualquer momento, meramente que ela tem uma probabilidade reduzida de desenvolver câncer de pulmão comparado com a população geral de indivíduos que possui um ou mais polimorfismos associados a câncer de pulmão aumentado ou não possui um polimorfismo associado a câncer de pulmão reduzido.

Será compreendido que, no contexto da presente invenção, o termo "polimorfismo" significa a ocorrência junto, na mesma população em uma taxa maior do que aquela atribuível à mutação aleatória (usualmente maior do que 1%), de duas ou mais formas alternadas (tais como alelos ou marcadores genéticos) de um *locus* cromossômico que diferem quanto à seqüência de nucleotídeo ou têm números variáveis de unidades de nucleotídeo repetidas. Veja www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/publicat/97pr/09gloss.html#p. Conseqüentemente, o termo "polimorfismos" é usado aqui para considerar variações genéticas, incluindo substituições de um único nucleotídeo, inserções e deleções de nucleotídeos, seqüências repetitivas (tais como microsatélites) e a ausência total ou parcial de genes (por exemplo, mutações null). Conforme usado aqui, o termo "polimorfismos" também inclui genotipos

e haplotipos. Um genotipo é a composição genética em um locus ou conjunto de loci específicos. Um haplotipo é um conjunto de marcadores genéticos intimamente relacionados presentes sobre um cromossoma os quais não são facilmente separáveis através de recombinação, tendem a ser herdados juntos e podem estar em desequilíbrio de ligação. Um haplotipo pode ser identificado por padrões de polimorfismos, tais como SNPs. Similarmente, o termo "polimorfismo de um único nucleotídeo" ou "SNP", no contexto da presente invenção, inclui substituições de um único nucleotídeo de base e polimorfismos por deleções e inserções curtas.

Um risco reduzido ou aumentado de um indivíduo desenvolver câncer de pulmão pode ser diagnosticado analisando uma amostra do referido indivíduo com relação à presença de um polimorfismo selecionado do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina de ligação à manose 2 (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);ou

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10).

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação

com qualquer um ou mais do grupo acima.

Esses polimorfismos podem também ser analisados em combinações de dois ou mais ou em combinação com outros polimorfismos indicativos do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, inclusive dos polimorfismos restantes listados acima.

São expressamente consideradas combinações dos polimorfismos acima com polimorfismos conforme descrito no pedido Internacional PCT PCT/NZ02/00106, publicado como WO 02/099134.

Ensaios os quais envolvem combinações de polimorfismos, incluindo aqueles passíveis de alto rendimento, tais como aqueles utilizando microarranjos, são preferidos.

Análises estatísticas, particularmente dos efeitos combinados desses polimorfismos, mostram que as análises genéticas da presente invenção podem ser usadas para determinar o quociente de risco de qualquer fumante e, em particular, identificar fumantes em maior risco de desenvolver câncer de pulmão. Tais análises combinadas podem ser combinações de polimorfismos de suscetibilidade apenas, de polimorfismos protetores apenas ou de combinações de ambos. Análises também podem ser graduais, com análise da presença ou ausência de polimorfismos protetores ocorrendo primeiro e, então, com análise de polimorfismos de suscetibilidade em seguida apenas onde nenhum polimorfismo protetor está presente.

Assim, através de análise sistemática da freqüência desses polimorfismos em grupos bem definidos de fumantes e não-fumantes, conforme descrito aqui, é possível implicar determinadas proteínas no desenvolvimento de câncer de pulmão e melhorar a capacidade de identificar quais fumantes estão em risco aumentado de desenvolver função pulmonar deficiente relacionada a câncer de pulmão e câncer de pulmão para fins prognósticos.

Os presentes resultados mostram, pela primeira vez, que a minoria de fumantes que desenvolvem câncer de pulmão assim o fazem porque têm um ou mais dos polimorfismos de suscetibilidade e poucos ou nenhum dos polimorfismos protetores definidos aqui. Acredita-se que a pre-

sença de um ou mais polimorfismos de suscetibilidade, junto com os efeitos irritantes e oxidantes prejudiciais do fumo, se combinam para tornar esse grupo de fumantes altamente suscetível ao desenvolvimento de câncer de pulmão. Fatores de risco adicionais, tais como histórico familiar, idade, peso, maços por ano, etc., também terão um impacto sobre o perfil de risco do indivíduo e podem ser avaliados em combinação com as análises genéticas descritas aqui.

O um ou mais polimorfismos podem ser detectados diretamente ou através de detecção de um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com os referidos um ou mais polimorfismos. Conforme discutido acima, desequilíbrio de ligação é um fenômeno em genética pelo qual duas ou mais mutações ou polimorfismos estão em proximidade genética tal que eles são co-herdados. Isso significa que, em genotipificação, detecção de um polimorfismo como presente infere a presença do outro (Reich DE et al.; Linkage disequilibrium in the human genome, Nature 2001, 411: 199-204).

Exemplos de polimorfismos descritos aqui que foram reportados como estando em desequilíbrio de ligação são apresentados aqui e incluem os polimorfismos 133 C/G e 105 A/C de Interleucina-18 e os polimorfismos CYP2E1, 1019 G/C PstI e C/T RsaI, conforme mostrado abaixo.

Gene	**SNPs**	**Números rs**	**Alelos em LD**	**LD entre alelos**	**Fenotipo em câncer de pulmão**
Interleucina-18	IL18 -133 C/G	rs360721	Alelo C	Forte LD	CC suscetibilidade
	IL18 105 A/C	rs549908	Alelo A		AA suscetibilidade
CYP2E1	CYP2E1 1019 G/C PstI	rs3813867	Alelo C	Forte LD	CG suscetibilidade
	CYP2E1 C/T RsaI	rs2031920	Alelo T		TC suscetibilidade

Será evidente que polimorfismos em desequilíbrio de ligação com um ou mais de outros polimorfismos associados a um risco aumentado ou diminuído de desenvolver câncer de pulmão também proporcionará utili-

dade como biomarcadores para risco de desenvolver câncer de pulmão. Os dados apresentados aqui mostram que a freqüência para SNPs em desequilíbrio de ligação são muito similares. Conseqüentemente, esses SNPs geneticamente relacionados podem ser utilizados em análises de polimorfismo combinado para derivar um nível de risco comparável com aquele calculado a partir do SNP original.

Portanto, será evidente que um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com os polimorfismos em desequilíbrio de ligação com os polimorfismos especificados aqui podem ser identificados, por exemplo, usando bancos de dados públicos. Exemplos de tais polimorfismos reportados como estando em desequilíbrio de ligação com os polimorfismos especificados aqui são apresentados na Tabela 36.

Também será evidente que, freqüentemente, uma variedade de nomenclaturas podem existir para qualquer dado polimorfismo. Por exemplo, acredita-se que o polimorfismo referido aqui como Arg 312 Gln no gene que codifica SOD3 tenha sido referido variadamente como Arg 213 Gly, +760 G/C e Arg 231 Gly (rs1799895). Quando de referência a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor conforme aqui descrito, tais nomenclaturas alternativas também são consideradas pela presente invenção.

Os métodos da invenção são primariamente dirigidos à detecção e identificação dos polimorfismos acima associados a câncer de pulmão, os quais são todos polimorfismos de um único nucleotídeo. Em termos gerais, um polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP) é uma alteração de uma única base ou mutação de ponto resultando em variação genética entre indivíduos. SNPs ocorrem no genoma humano aproximadamente uma vez a cada 100 a 300 bases e podem ocorrem em regiões de codificação ou não-codificação. Em virtude da redundância do código genético, um SNP na região de codificação pode ou não alterar a seqüência de aminoácido de um produto de proteína. Um SNP em uma região de não-codificação pode, por exemplo, alterar a expressão genética, por exemplo, através de modificação de regiões de controle, tais como promotores, sítios de ligação de fator de transcrição, sítios de processamento, sítios de ligação ribossômica e afetar a

transcrição, processamento e tradução de gene.

SNPs podem facilitar estudos de genética por associação em larga escala e tem havido, recentemente, grande interesse na descoberta e detecção de SNP. SNPs mostram grande promessa como marcadores para uma série de traços fenotípicos (incluindo traços latentes) tais como, por exemplo, propensão e gravidade de doença, propensão ao bem-estar e responsividade a fármacos incluindo, por exemplo, suscetibilidade à reações adversas a fármacos. Conhecimento da associação de um SNP particular com um traço fenotípico, associado ao conhecimento se um indivíduo tem o referido SNP em particular, pode possibilitar a objetivação de aplicações diagnósticas, preventivas e terapêuticas para permitir melhor tratamento da doença, intensificar a compreensão de estados doentios e, por fim, facilitar a descoberta de tratamentos mais eficazes, tais como regimes de tratamento personalizados.

Na verdade, uma série de bancos de dados foram construídos de SNPs conhecidos e, para alguns de tais SNPs, o efeito biológico associado a um SNP. Por exemplo, o banco de dados de SNP do NCBI "dbSNP" é incorporado no sistema Entrez do NCBI e pode ser consultado usando a mesma abordagem que outros bancos de dados Entrez, tais como PubMed e GenBank. Esses bancos de dados registram mais de 1,5 milhões de SNPs mapeados sobre a seqüência do genoma humano. Cada entrada no dbSNP inclui o contexto de seqüência do polimorfismo (isto é, a seqüência circundante), a freqüência de ocorrência do polimorfismo (por população ou indivíduo) e o(s) método(s) experimental(is), protocolos e condições usadas para ensaiar a variação e podem incluir informação associando um SNP a um traço fenotípico em particular.

Pelo menos em parte devido ao impacto potencial sobre a saúde e bem-estar, tem havido e continua a existir um grande esforço pelo desenvolvimento de métodos que identificam confiável e rapidamente SNPs. Essa não é uma tarefa trivial, pelo menos em parte em virtude da complexidade do DNA genômico humano, com um genoma haplóide de 3×10^9 pares de base e a sensibilidade e requisitos discriminatórios associados.

Abordagens de genotipificação para detectar SNPs bem-conhecidas na técnica incluem seqüenciamento de DNA, métodos que requerem hibridização alelo-específica de primers ou sondas, incorporação alelo-específica de nucleotídeos em primers que se ligam próximo ou adjacentes aos polimorfismos (freqüentemente referida como "extensão de uma única base" ou "mini-seqüenciamento"), ligação alelo-específica (união) de oligonucleotídeos (reação em cadeia de ligação ou sondas de cadeado de ligação), clivagem alelo-específica de oligonucleotídeos ou produtos de PCR através de enzimas de restrição (análise de polimorfismos no comprimento do fragmento de restrição ou RFLP) ou produtos químicos ou outros agentes, decomposição de diferenças alelo-dependentes em mobilidades eletroforéticas ou cromatográficas por enzimas estrutura-específicas, incluindo enzimas estrutura-específicas invasivas ou espectrometria de massa. Análise de variação de aminoácido também é possível onde o SNP oscila em uma região de codificação e resulta em uma alteração de aminoácido.

Seqüenciamento de DNA permite a determinação direta e identificação de SNPs. Os benefícios na especificidade e precisão geralmente pesam mais para fins de seleção pelas dificuldades inerentes em seqüenciamento do genoma todo ou mesmo subgenoma alvo.

Mini-seqüenciamento envolve permitir que um primer se hibridize à seqüência de DNA adjacente ao sítio do SNP sobre a amostra de teste sob investigação. O primer é estendido em um nucleotídeo usando todos os quatro dideóxinucleotídeos (A, C, G ou T) fluorescente diferencialmente rotulados e uma DNA polimerase. Apenas um dos quatro nucleotídeos (caso homozigótico) ou dois dos quatro nucleotídeos (caso heterozigótico) são incorporados. A base que é incorporada é complementar ao nucleotídeo na posição do SNP.

Uma série de métodos atualmente usados para detecção de SNP envolve hibridização sítio-específica e/ou alelo-específica. Esses métodos contam grandemente com a ligação discriminatória de oligonucleotídeos à seqüências alvo contendo o SNP de interesse. As técnicas da Affymetrix (Santa Clara, Calif.) e Nanogen Inc. (San Diego, Calif.) são particularmente

bem-conhecidas e utilizam o fato de que duplas de DNA contendo combinações errôneas de uma única base são muito menos estáveis do que duplas que são perfeitamente emparelhadas. A presença de uma dupla equivalente é detectada através de fluorescência.

A maioria dos métodos para detectar ou identificar SNPs através de hibridização sítio-específica requer aminoácido do alvo através de métodos tal como PCR para aumentar a sensibilidade e especificidade (veja, por exemplo, Pat. U.S. No. 5.679.524, publicação PCT WO 98/59066, publicação PCT WO 95/12607). O pedido US de patente 20050059030 (incorporado aqui em sua totalidade) descreve um método para detecção de polimorfismo de um único nucleotídeo em DNA humano total sem amplificação anterior ou redução de complexidade para enriquecer seletivamente a seqüência alvo e sem o auxílio de qualquer reação enzimática. O método utiliza uma hibridização de uma única etapa envolvendo dois eventos de hibridização: hibridização de uma primeira porção da seqüência alvo a uma sonda de captura e hibridização de uma segunda porção da referida seqüência alvo a uma sonda de detecção. Ambos os eventos de hibridização ocorrem na mesma reação e a ordem na qual a hibridização ocorre não é crítica.

O pedido de patente US 20050042608 (incorporado aqui em sua totalidade) descreve uma modificação do método de detecção eletroquímica de hibridização de ácido nucléico de Thorp et al. (Pat. U.S. No. 5.871.918). Resumidamente, sondas de captura são projetadas, cada uma das quais tem uma base com SNP diferentes e uma seqüência de bases de sonda sobre cada lado da base com SNP. As bases da sonda são complementares à seqüência alvo correspondente adjacente ao sítio do SNP. Cada sonda de captura é imobilizada sobre um eletrodo diferente tendo uma camada externa não condutiva sobre uma superfície da superfície de trabalho condutiva de um substrato. A extensão de hibridização entre cada sonda de captura e o alvo de ácido nucléico é detectada através de detecção da reação de oxidação-redução em cada eletrodo, utilizando um complexo de metal de transição. Essas diferenças nas taxas de oxidação nos diferentes eletrodos são usadas para determinar se o alvo de ácido nucléico selecionado tem um po-

limorfismo de um único nucleotídeo no sítio de SNP selecionado.

A técnica da Lynx Therapeutics (Hayward, Calif.) usando a tecnologia MEGATYPE® pode genotipificar números muito grandes de SNPs simultaneamente de pequenos ou grandes reservatórios de material genômico. Essa tecnologia usa sondas fluorescentemente rotuladas e compara os genomas coletados de duas populações, permitindo detecção e recuperação de fragmentos de DNA abrangendo SNPs que distinguem as duas populações, sem requerer mapeamento ou conhecimento prévio do SNP.

Há uma série de outros métodos para detecção e identificação de SNPs. Esses incluem o uso de espectrometria de massa, por exemplo, para medir sondas que se hibridizam ao SNP. Essa técnica varia em quão rapidamente ela pode ser realizada, de umas poucas amostras por dia a um alto rendimento de 40.000 SNPs por dia, usando tags de código de massa. Um exemplo preferido é o uso de determinação por espectrometria de massa de uma seqüência de ácido nucléico a qual compreende os polimorfismos da invenção, por exemplo, a qual inclui o promotor do gene de COX2 ou uma seqüência complementar. Tais métodos espectrométricos da massa são conhecidos por aqueles versados na técnica e os métodos de genotipificação da invenção são passíveis de adaptação para a detecção espectrométrica de massa dos polimorfismos da invenção, por exemplo, os polimorfismos no promotor de COX2 da invenção.

SNPs também podem ser determinados através de análise de ligação-bit. Essa análise requer dois primers que se hibridizam a um alvo com um intervalo ("gap") de nucleotídeo entre os iniciadores. Cada um dos quatro nucleotídeos é adicionado a uma mistura de reação separada contendo DNA polimerase, ligase, DNA alvo e os iniciadores. A polimerase adicionada um nucleotídeo à extremidade 3' do primeiro iniciador que é complementar ao SNP e a ligase, então, liga aos dois primers adjacentes juntos. Quando de aquecimento da amostra, se ligação ocorreu, o primer agora maior permanecerá hibridizado e um sinal, por exemplo, fluorescência, pode ser detectado. Uma discussão adicional desses métodos pode ser encontradas nas Pats. U.S. Nos. 5.919.626; 5.945.283; 5.242.794; e 5.952.174.

A Patente US 6.821.733 (incorporada aqui em sua totalidade) descreve métodos para detectar diferenças na seqüência de duas moléculas de ácido nucléico que incluem as etapas de: contato de dois ácidos nucléicos sob condições que permitem a formação de um complexo de quatro vias e migração de ramificação; contato do complexo de quatro vias com uma molécula rastreadora e uma molécula de detecção sob condições nas quais a molécula de detecção é capaz de ligação à molécula rastreadora ou ao complexo de quatro vias; e determinação da ligação da molécula rastreadora à molécula de detecção antes e após exposição ao complexo de quatro vias. Competição do complexo de quatro vias com a molécula rastreadora pela ligação à molécula de detecção indica uma diferença entre os dois ácidos nucléicos.

Abordagens baseadas em proteína e proteômica também são adequadas para detecção e análise de polimorfismo. Polimorfismos os quais resultam em ou estão associados à variação em proteínas expressas podem ser detectados diretamente através de análise das referidas proteínas. Isso, tipicamente, requer separação das várias proteínas dentro de uma amostra, por exemplo, através de eletroforese em gel ou HPLC, e identificação das referidas proteínas ou peptídeos derivados das mesmas, por exemplo, através de RMN ou seqüenciamento de proteína, tal como seqüenciamento químico ou, mais prevalentemente, espectrometria de massa. Metodologias proteômicas são bem-conhecidas na técnica e têm grande potencial para automatização. Por exemplo, sistemas integrados, tal como o sistema ProteomIQ® da Proteome Systems, proporcionam plataformas de alto rendimento para análise de proteoma combinando preparo de amostra, separação de proteína, aquisição e análise de imagem, processamento de proteína, espectrometria de massa e tecnologias de bioinformática.

A maioria dos métodos proteômicos de identificação de proteína utiliza espectrometria de massa, incluindo espectrometria de massa por contenção de íons, cromatografia de líquido (LC) e espectrometria de massa por MS/LC, espectrometria de massa por cromatografia gasosa (GC), espectrômetro de massa-ressonância em cyclotron por transformação de íons de

Fourier (FT-MS), espectrometria de massa por MALDI-TOF e espectrometria de massa por ESI e seus derivados. Métodos espectrométricos de massa também são úteis na determinação da modificação pós-traducional de proteínas, tal como fosforilação ou glicosilação e, assim, têm utilidade na determinação de polimorfismos que resultam em ou estão associados à variação em modificações pós-traducionais de proteínas.

Tecnologias associadas também são bem-conhecidas e incluem, por exemplo, dispositivos de processamento de proteína, tal como o "Chemical Inkjet Printer" compreendendo tecnologia de impressão piezoelétrica que permite digestão química ou enzimática *in situ* das amostras de proteína eletroblotted a partir de géis de PAGE 2-D em membranas através de jateamento da enzima ou produto químico diretamente sobre os pontos de proteína selecionados. Após digestão *in situ* e incubação das proteínas, a membrana pode ser colocada diretamente no espectrômetro de massa para análise de peptídeo.

Um grande número de métodos que contam com a variabilidade conformacional de ácidos nucléicos foi desenvolvido para detectar SNPs.

Por exemplo, Polimorfismo Conformacional de uma Única filamento (SSCP, Orita et al., PNAS 1989, 86: 2766-2770) é um método que conta com a capacidade de ácidos nucléicos de filamento simples de formar estrutura secundária em solução sob determinadas condições. A estrutura secundária depende da composição de base e pode ser alterada através de substituição de um único nucleotídeo, causando diferenças na mobilidade eletroforética sob condições de não desnaturação. Os vários polimorfos são, tipicamente, detectados através de auto-radiografia quando radioativamente rotulados, através de coloração das bandas com prata, através de hibridização com fragmentos de sonda detectavelmente rotulados ou através de uso de primers de PCR fluorescentes os quais são subseqüentemente detectados, por exemplo, por um seqüenciador automático de DNA.

Modificações de SSCP são bem-conhecidas na técnica e incluem o uso de diferentes condições de operação de gel tais como, por exemplo, diferentes temperaturas ou a adição de aditivos e diferentes matrizes de

gel. Outras variações no SSCP são bem-conhecidos por aqueles versados, incluindo RNA-SSCP, caracterização de perfil-SSCP por endonuclease de restrição, caracterização de perfil por dideóxi (um híbrido entre seqüenciamento de dideóxi e SSCP), caracterização de perfil por dideóxi bidirecional (na qual a reação de término de dideóxi é realizada simultaneamente com dois primers opostos) e PCR-SSCP fluorescente (na qual os produtos de PCR são internamente rotulados com múltiplos corantes fluorescentes, podendo ser digeridos com enzimas de restrição, seguido por SSCP, e analisados em um seqüenciador automático de DNA capaz de detectar os corantes fluorescentes).

Outros métodos os quais utilizam a mobilidade variada de diferentes estruturas de ácido nucléico incluem Eletroforese em Gel com Gradiente de Desnaturação (DGGE), Eletroforese em Gel com Gradiente de Temperatura (TGGE) e Análise de Heterodupla (HET). Aqui, variação na dissociação do DNA de filamento duplo (por exemplo, em virtude de combinacões errôneas de par de base) resulta em uma alteração na mobilidade eletroforética. Esses desvios de mobilidade são usados para detectar variações de nucleotídeo.

Cromatografia de Líquido de Alta Pressão de Desnaturação (HPLC) é ainda um outro método utilizado para detectar SNPs, usando métodos de HPLC bem-conhecidos na técnica como uma alternativa aos métodos de separação descritos acima (tal como eletroforese em gel) para detectar, por exemplo, homoduplas e heteroduplas as quais eluem da coluna de HPLC em diferentes taxas, desse modo, permitindo a detecção de nucleotídeos erroneamente combinados e, assim, SNPs.

Ainda outros métodos para detectar SNPs contam com a diferença na suscetibilidade de ácidos nucléicos de filamento dupla e filamento simples de clivagem por vários agentes, incluindo agentes de clivagem química e enzimas nucleolíticas. Por exemplo, clivagem de combinações errôneas dentro de heteroduplas de RNA:DNA por RNase A, de heteroduplas, por exemplo, por endonuclease YII de bacteriófago T4 ou endonuclease I de T7, da extremidade 5' dos loops de hairpina na junção entre DNA de filamen-

to simples e filamento duplo por cleavase I e a modificação de nucleotídeos erroneamente emparelhados dentro de heteroduplas por agentes químicos comumente usados em química de seqüenciamento de Maxam-Gilbert, são todos bem-conhecidos na técnica.

Outros exemplos incluem o Teste de Tradução de Proteína (PTT) usado para decompor códons gerados por variações as quais levam a um término prematuro de tradução e a produtos de proteína de tamanho reduzido e o uso de proteínas de ligação de combinação errônea. Variações são detectadas através de ligação, por exemplo, da proteína MutS, um componente do sistema de reparo de combinação errônea de DNA de *Escherichia coli* ou as proteínas hMSH2 e GTBP humanas, à heteroduplas de DNA filamento dupla contendo bases erroneamente combinadas. Duplas de DNA são, então, incubadas com a proteína de ligação erroneamente combinada e variações são detectadas através do ensaio de desvio de mobilidade. Por exemplo, um ensaio simples é baseado no fato de que a ligação da proteína de ligação erroneamente combinada à heterodupla protege a heterodupla de degradação por exonuclease.

Aqueles versados na técnica saberão que um SNP em particular, particularmente quando ele ocorre em uma região regulatória de um gene, tal como um promotor, pode estar associado à expressão alterada de um gene. Expressão alterada de um gene também pode resultar quando o SNP está localizado na região de codificação de um gene de codificação de proteína, por exemplo, onde o SNP está associado a códons de uso variado e, assim, a tRNAs de diferente abundância. Tal expressão alterada pode ser determinada através de métodos bem-conhecidos na técnica e pode, desse modo, ser empregada para detectar tais SNPs. Similarmente, onde um SNP ocorre na região de codificação de um gene e resulta em uma substituição de aminoácido não-sinônima, tal substituição pode resultar em uma alteração na função do produto genético. Similarmente, em casos onde o produto genético é um RNA, tais SNPs podem resultar em uma alteração da função do produto genético do RNA. Qualquer uma de tais alterações na função, por exemplo, conforme avaliado em um ensaio de atividade ou funcionalida-

de, pode ser empregada para detectar tais SNPs.

Os métodos acima de detecção e identificação de SNPs são passíveis de uso nos métodos da invenção.

Naturalmente, de forma a detectar e identificar SNPs de acordo com a invenção, uma amostra contendo material a ser testado é obtida do indivíduo. A amostra pode ser qualquer amostra potencialmente contendo os SNPs alvo (ou polipeptídeos alvo, conforme possa ser o caso) e obtida de qualquer biópsia de fluido corporal (sangue, urina, saliva, etc.) ou outros preparados teciduais.

DNA ou RNA pode ser isolado de amostra de acordo com qualquer um de uma série de métodos bem-conhecidos na técnica. Por exemplo, métodos de purificação de ácidos nucléicos são descritos em Tijssen; Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization with nucleic acid probes Part 1: Theory and Nucleic acid preparation, Elsevier, New York, N.Y. 1993, bem como em Maniatis, T., Fritsch, E. F. e Sambrook, J., Molecular Cloning Manual 1989.

Para auxiliar na detecção da presença ou ausência de polimorfismos/SNPs, sondas e/ou primers de ácido nucléico podem ser proporcionados. Tais sondas têm seqüências de ácido nucléico específicas para alterações cromossômicas, evidenciando a presença ou ausência do polimorfismo e são, de preferência, rotuladas com uma substância que emite um sinal detectável quando combinadas com o polimorfismo alvo.

As sondas de ácido nucléico podem ser DNA genômico ou cDNA ou mRNA ou qualquer material semelhante a RNA ou semelhante a DNA, tais como ácidos nucléicos de peptídeo, DNAs ramificados e similars. As sondas podem ser sondas de polinucleotídeo sentido ou anti-sentido. Onde polinucleotídeos alvo são de filamento duplo, as sondas podem ser filamento sentido ou anti-sentido. Onde os polinucleotídeos alvo são de filamento simples, as sondas são de filamentos simples complementares.

As sondas podem ser preparadas através de uma variedade de esquemas sintéticos ou enzimáticos, os quais são bem-conhecidos na técnica. As sondas podem ser sintetizadas, no todo ou em parte, usando méto-

dos químicos bem-conhecidos na técnica (Caruthers et al., *Nucleic Acids Res., Symp. Ser.,* 215-233 (1980)). Alternativamente, as sondas podem ser geradas, no todo ou em parte, enzimaticamente.

Análogos de nucleotídeo podem ser incorporados em sondas através de métodos bem-conhecidos na técnica. O único requisito é que o análogo de nucleotídeo incorporado deva servir ao par de base com seqüências de polinucleotídeo alvo. Por exemplo, determinados nucleotídeos de guanina podem ser substituídos por hipoxantina, o qual se emparelha com resíduos de citosina. Contudo, esses pares de base são menos estáveis do que aqueles entre guanina e citosina. Alternativamente, nucleotídeos de adenina podem ser substituídos por 2,6-diaminopurina, a qual pode formar pares de base mais fortes do que aqueles entre adenina e timidina.

Adicionalmente, as sondas podem incluir nucleotídeos que foram derivatizados química ou enzimaticamente. Modificações químicas típicas incluem derivatização com grupos acila, alquila, arila ou amino.

As sondas podem ser imobilizadas sobre um substrato. Substratos preferidos são qualquer suporte rígido ou semi-rígido adequado, incluindo membranas, filtros, lascas, lâminas, wafers, fibras, contas magnéticos ou não-magnéticos, géis, tubos, placas, polímeros, micropartículas e capilares. O substrato pode ter uma variedade de formas de superfície, tais como cavidades, trincheiras, pinos, canais e poros, aos quais as sondas de polinucleotídeo são ligadas. De preferência, os substratos são opticamente transparentes.

Além disso, as sondas não têm de ser diretamente ligadas ao substrato, mas antes, podem ser ligadas ao substrato através de um grupo ligante. Os grupos ligantes têm, tipicamente, cerca de 6 a 50 átomos de comprimento para proporcionar exposição à sonda presa. Grupos ligantes preferidos incluem oligômeros de etileno glicol, diaminas, diácidos e similars. Grupos reativos sobre a superfície do substrato reagem com uma das porções terminais do ligante para ligar o ligante ao substrato. A outra porção terminal do ligante é, então, funcionalizada para ligação da sonda.

As sondas podem ser presas a um substrato através de distribu-

ição de reagentes para síntese de sonda sobre a superfície do substrato ou através de distribuição de fragmentos de DNA pré-formados ou clones sobre a superfície do substrato. Distribuidores típicos incluem uma micropipeta de distribuição de solução ao substrato com um sistema robótico para controlar a posição da micropipeta com relação ao substrato. Pode haver uma multiplicidade de distribuidores, de modo que reagentes podem ser distribuídos às regiões de reação simultaneamente.

Microarranjos de ácido nucléico são preferidos. Tais microarranjos (incluindo lascas de ácido nucléico) são bem-conhecidos na técnica (veja, por exemplo, Patentes U.S. Nos. 5.578.832; 5.861.242; 6.183.698; 6.287.850; 6.291.183; 6.297.018; 6.306.643; e 6.308.170, cada uma incorporada por referência).

Alternativamente, microarranjos de anticorpo podem ser produzidos. A produção de tais microarranjos é essencialmente conforme descrito em Schweitzer & Kingsmore, "Measuring proteins on microarrays", *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13(1): 14-9; Avseekno et al., "Immobilization of proteins in immunochemical microarrays fabricated by electrospray deposition", *Anal Chem* 2001, 15; 73(24): 6047-52; Huang, "Detection of multiple proteins in an antibody-based protein microarray system, *Immunol Methods* 2001 1; 255 (1-2): 1-13.

A presente invenção também considera o preparo de kits para uso de acordo com a presente invenção. Kits adequados incluem vários reagentes para uso de acordo com a presente invenção em recipientes e materiais de embalagem adequados, incluindo tubos, frascos e embalagens enroladas hermeticamente com plástico e moldadas a sopro.

Materiais adequados para inclusão em um kit exemplificativo de acordo com a presente invenção compreendem um ou mais dos seguintes: pares de primer gene-específicos (oligonucleotídeos) que se anelam aos domínios de seqüência de DNA e cDNA que flanqueiam os polimorfismos genéticos de interesse, reagentes capazes de amplificar um domínio de seqüência específica em DNA genômico ou cDNA sem o requisito de realizar PCR; reagentes requeridos para discriminar entre os vários possíveis alelos

nos domínios de seqüência amplificados por PCR ou amplificação por não-PCR (por exemplo, endonucleases de restrição, oligonucleotídeo que se anela, de preferência, a um alelo do polimorfismo, incluindo aqueles modificados para conter enzimas ou grupos químicos fluorescentes que amplificam o sinal do oligonucleotídeo e fazem discriminação de alelos mais robustos); reagentes requeridos para separar fisicamente produtos derivados de vários alelos (por exemplo, agarose ou poliacrilamida e um tampão a ser usado em eletroforese, colunas de HPLC, géis de SSCP, géis de formamida ou um suporte de matriz para MALDI-TOF).

Será apreciado que os métodos da invenção podem ser realizados em conjunto com uma análise de outros fatores de risco conhecidos por estarem associados ao câncer de pulmão. Tais fatores de risco incluem fatores de risco epidemiológicos associados a um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão. Tais fatores de risco incluem, mas não estão limitados a, fumo e/ou exposição ao fumo de tabaco, idade, sexo e histórico familiar. Esses fatores de risco podem ser usados para aumentar uma análise de um ou mais polimorfismo, conforme aqui descrito, quando de avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

Os métodos prognósticos da invenção permitem que uma série de intervenções terapêuticas e/ou regimes de tratamento sejam avaliados quanto à adequabilidade e implementados para um determinado indivíduo. O mais simples desses pode ser o fornecimento, ao indivíduo, da motivação para implementar uma mudança no estilo de vida, por exemplo, onde o indivíduo é um fumante atual, os métodos da invenção podem fornecer motivação para parar de fumar.

A maneira de intervenção terapêutica ou tratamento será estabelecida pela natureza do(s) polimorfismo(s) e o efeito biológico do(s) referido(s) polimorfismo(s). Por exemplo, onde um polimorfismo de suscetibilidade está associado a uma alteração na expressão de um gene, intervenção ou tratamento é, de preferência, dirigido à restauração de expressão normal do referido gene, por exemplo, através de administração de um agente capaz de modular a expressão do referido gene. Onde um polimorfismo está asso-

ciado à expressão diminuída de um gene, terapia pode envolver administração de um agente capaz de aumentar a expressão do referido gene e, inversamente, onde um polimorfismo está associado à expressão aumentada de um gene, terapia pode envolver administração de um agente capaz de diminuir a expressão do referido gene. Métodos úteis para a modulação de expressão de gene são bem-conhecidos na técnica. Por exemplo, em situações onde um polimorfismo está associado à expressão super-regulada de um gene, terapia utilizando, por exemplo, RNAi ou metodologias anti-sentido podem ser implementadas para diminuir a abundância de mRNA e, assim, diminuir a expressão do referido gene. Alternativamente, terapia pode envolver métodos dirigidos a, por exemplo, modulação da atividade do produto do referido gene, desse modo, compensando a expressão anormal do referido gene.

Onde um polimorfismo de suscetibilidade está associado à função de produto genético diminuída ou níveis diminuídos de expressão de um produto genético, intervenção ou tratamento terapêutico pode envolver aumento ou substituição da referida função ou suplementação da quantidade de produto genético dentro do indivíduo, por exemplo, através de administração do referido produto genético ou um análogo funcional do mesmo. Por exemplo, onde um polimorfismo está associado à função enzimática diminuída, terapia pode envolver administração de enzima ativa ou um análogo enzimático ao indivíduo. Similarmente, onde um polimorfismo está associado à função aumentada do produto genético, intervenção ou tratamento terapêutico pode envolver redução da referida função, por exemplo, através de administração de um inibidor do referido produto genético ou um agente capaz de diminuir o nível do referido produto genético no indivíduo. Por exemplo, onde um alelo ou genotipo de SNP está associado à função enzimática aumentada, terapia pode envolver administração de um inibidor enzimático ao indivíduo.

Da mesma forma, quando um polimorfismo protetor está associado à super-regulação de um gene particular ou expressão de uma enzima ou outra proteína, terapias podem ser dirigidas para imitar tal super-

regulação ou expressão em um indivíduo carecendo do genotipo resistivo e/ou distribuição de tal enzima ou outra proteína as tal indivíduo. Ainda, quando um polimorfismo protetor está associado à sub-regulação de um gene em particular ou à expressão diminuída ou eliminada de uma enzima ou outra proteína, terapias desejáveis podem ser dirigidas a imitar tais condições em um indivíduo que carece do genotipo protetor.

A relação entre os vários polimorfismos identificados acima e a suscetibilidade (ou de outro modo) de um indivíduo a câncer de pulmão também tem aplicação no design e/ou seleção de produtos terapêuticos candidatos. Isso é particularmente o caso onde a associação entre um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor é manifestado por uma super-regulação ou sub-regulação de expressão de um gene. Em tais casos, o efeito de um produto terapêutico candidato sobre tal super-regulação ou sub-regulação é prontamente detectável.

Por exemplo, em uma modalidade existente, culturas de células e do órgão pulmonar humano são selecionados com relação aos polimorfismos apresentados acima. (Para informação sobre culturas de células e de órgão pulmonar humano veja, por exemplo: Bohinskiet al.(1996) *Molecular and Cellular Biology* **14**: 5671-5681; Collettsolberg et al. (1996) *Pediatric Research* **39**: 504; Hermanns et al. (2004) *Laboratory Investigation* **84**: 736-752; Hume et al. (1996) *In Vitro Cellular & Deveiopmental Biology-Animal* **32**: 24-29; Leonardi et al. (1995) **38**: 352-355; Notingher et al. (2003) Biopolymers (Biospectroscopy) **72**: 230-240; Ohga et al. (1996) *Biochemical and Biophysical Research Communications* **228**: 391-396; cada um dos quais é aqui incorporado por referência em sua totalidade). Culturas representando grupos de genotipo de suscetibilidade e protetor são selecionadas, junto com culturas as quais são putativamente "normais" em termos da expressão de um gene o qual é super-regulado ou sub-regulado onde um polimorfismo protetor está presente.

Amostras de tais culturas são expostas a uma biblioteca de compostos terapêuticos candidatos e selecionadas com relação a qualquer um ou todos de: (a) sub-regulação de genes de suscetibilidade que são

normalmente super-regulados em polimorfismos de suscetibilidade; (b) super-regulação de genes de suscetibilidade que são normalmente sub-regulados em polimorfismos de suscetibilidade; (c) sub-regulação de genes protetores que são normalmente sub-regulados ou não expressos (ou formas nulas são expressas) em polimorfismos protetores; e (d) super-regulação de genes protetores que são normalmente super-regulados em polimorfismos protetores. Compostos são selecionados com relação à sua capacidade de alterar a regulação e/ou ação de genes de suscetibilidade e/ou genes protetores em uma cultura tendo um polimorfismo de suscetibilidade.

Similarmente, onde o polimorfismo é um o qual, quando presente, resulta em uma concentração fisiologicamente ativa de um produto genético expresso fora da faixa normal para um indivíduo (ajustada para a idade e sexo) e onde há uma abordagem terapêutica ou profilática disponível para restaurar os níveis desse produto genético expresso para dentro da faixa normal, indivíduos podem ser selecionados para determinar a probabilidade de se beneficiar dessa abordagem restauradora. Tal seleção envolve detecção da presença ou ausência do polimorfismo no indivíduo através de qualquer um dos métodos descritos aqui, com aqueles indivíduos nos quais o polimorfismo está presente sendo identificados como indivíduos prováveis de se beneficiar de tratamento.

A invenção será agora descrita em maiores detalhes com referência a exemplos não limitativos.

EXEMPLO 1

Estudo de Associação de Caso

Introdução

Estudos de associação de caso-controle permitem a seleção cuidadosa de um grupo de controle onde adequação a fatores de risco importantes é crítica. Nesse estudo, fumantes diagnosticados com câncer de pulmão e fumantes sem câncer de pulmão com função pulmonar normal foram comparados. Esse grupo de controle único é altamente relevante, uma vez que é impossível pré-selecionar fumantes com risco zero de câncer de

pulmão - isto é, aqueles que, embora fumantes, nunca desenvolverão câncer de pulmão. Fumantes com uma história de muitos maços por ano e função pulmonar normal foram usados como um grupo de fumantes de "baixo risco", uma vez que os Requerentes acreditam que não é possível, com o conhecimento atual, identificar um grupo de fumantes de menor risco. Os Requerentes acreditam, sem desejar estar preso a qualquer teoria, que essa abordagem permite uma comparação mais rigorosa de baixa penetração, polimorfismos de alta freqüência que podem conferir um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão. Os Requerentes também acreditam, novamente sem desejar estar preso a qualquer teoria, que podem existir polimorfismos que podem conferir um risco aumentado de câncer de pulmão. Os Requerentes também acreditam, novamente sem desejar estar preso a qualquer teoria, que podem existir polimorfismos que conferem um grau de proteção contra câncer de pulmão o qual pode ser o único evidente se um grupo de fumantes com função pulmonar normal é utilizado como um grupo comparativo. Assim, espera-se que fumantes com câncer de pulmão tenham uma freqüência menor desses polimorfismos comparado com fumantes com função pulmonar normal e nenhum câncer de pulmão diagnosticado.

Métodos

Recrutamento de indivíduo

Indivíduos de descendência Européia que tinham fumado um mínimo de cinqüenta maços por ano e diagnosticados com câncer de pulmão foram recrutados. Os indivíduos iam a encontro dos seguintes critérios: diagnosticados com câncer de pulmão baseado em achados radiológicos e histológicos, incluindo primariamente cânceres de pulmão com tipos histológicos de câncer de pulmão de célula pequena, câncer de pulmão de célula escamosa, adenocarcinoma do pulmão, câncer de célula não-pequena (onde marcadores histológicos não podem distinguir o subtipo) e carcinoma brônquio-alveolar. Os indivíduos poderiam ser de qualquer idade e em qualquer estágio de tratamento após o diagnóstico ter sido confirmado. Cento e nove indivíduos foram recrutados, desses, 58% eram homens, a FEV1/FVC média (limites de confiança ± 95%) era de 51% (49-53), FEV1 média como

um percentual do previsto era 43 (41-45). A idade média, cigarros por dia e história de anos de fumo era 65 anos (64-66), 24 cigarros/dia (22-25) e 50 maços/ano (41-55), respectivamente. Duzentos e setenta indivíduos Europeus que tinham fumado um mínimo de vinte maços por ano e que nunca tinham sofrido dispnéia e não tinham sido diagnosticados com uma doença pulmonar obstrutiva ou câncer de pulmão no passado também foram estudados. Esse grupo de controle foi recrutado clube para os idosos e consistiam em 63% de homens, a FEV1/FVC média (CI de 95%) era de 82% (81-83), a FEV1 média como um percentual do previsto era 96 (95-97). A idade média, cigarros por dia e história de maços por ano era 59 anos (57-61), 24 cigarros/dia (22-26) e 42 maços por ano (39-45), respectivamente. Usando um método baseado em PCR (Sandford et al., 1999), todos os indivíduos foram genotipificados com relação a mutações α1-antitripsina (alelos S e Z) e aqueles com o alelo Z foram excluídos. 190 doadores de sangue da Europa (estado de fumo desconhecido) foram recrutados consecutivamente através de serviços de doadores de sangue locais. Sessenta e três por cento eram homens e sua idade média era de 50 anos. Quando de análise por regressão, descobriu-se que a diferença na idade e diferença nos maços por ano observadas entre aqueles que sofrem de câncer de pulmão e fumantes resistentes não determina a FEV ou câncer de pulmão.

Esse estudo mostra que polimorfismos encontrados em maior freqüência em pacientes com câncer de pulmão comparado com fumantes resistentes podem refletir uma suscetibilidade aumentada ao desenvolvimento de câncer de pulmão. Similarmente, polimorfismos encontrados em maior freqüência em fumantes resistentes comparado com câncer de pulmão podem refletir um papel protetor.

Sumário de características para os indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes

Média de Parâmetro (IQR)	Câncer de pulmão N = 109	Fumantes resistentes N = 200	Diferenças
% de homens	52%	64%	ns
Idade (anos)	68 (11)	60 (12)	P<0,05
Maços por ano	40 (31)	43 (25)	P<0,05
Cigarros/dia	18 (11)	24(12)	ns
FEV1 (L)	1,7 (0,6)	2,8 (0,7)	P<0,05
FEV1 % previsto	67 (22)	96% (10)	P<0,05
FEV1/FVC	59 (14)	82 (8)	P<0,05

Médias e limites de confiança de 95%

Genotipificação de polimorfismos nulos para S-transferase de glutationa

DNA genômico foi extraído usando métodos padrão com fenol e clorofórmio. Grupos de pacientes e controles foram configurados em um formato de PCR com 96 cavidades contendo controles negativos estratégicos. Os detalhes de primers de ensaio, condições de PCR e ensaios de RFLP foram anteriormente descritos[Cantlay AM. et al., 1994]. Genotipificação foi feita usando modificações mínimas do protocolo acima otimizado para nossas condições de laboratório. As reações de PCR foram amplificadas em termociclizadores MJ Research em um volume total de 25 µl e continham 80 ng de DNA genômico, 100 ng de primers dianteiro e reverso, dNTPs a 200 mM, Tris-HCl a 20 mM (pH de 8,4), KCl a 50 mM, $MgCl_2$ a 2,5 mM e 1,0 unidade de Taq polimerase (Qiagen). Seqüências de primer dianteiro, interno (GSTM4) e reverso eram 5'-CTGCCCTACTTGATTGATGG-3' [SEQ.ID.NO. 143], 5'-ATCTTCTCCTCTTCTGTCTC-3' [SEQ.ID.NO. 144] e 5'-TTCTGGATTGTAGCAGATCA-3' [SEQ.ID.NO. 145]. Condições de ciclização consistiam em 94C 60 s, 59C 30s, 72C 30 s durante 35 ciclos com uma extensão de duração prolongada de 3 min. Os produtos digeridos foram separados sobre um gel de agarose a 3%. Os produtos foram visualizados através de transiluminação com ultravioleta após coloração com brometo de etídio e a migração comparada contra um padrão de 1 Kb plus ladder (Invi-

trogen). Genotipos foram registrados em folhas de dados e análise estatística realizada.

Genotipificação de polimorfismos em ciclooxigenase 2

DNA genômico foi extraído de amostras de sangue inteiro (Maniatis,T., Fritsch, E. F. e Sambrook, J., Molecular Cloning Manual. 1989). O polimorfismo –765 de ciclooxigenase 2 foi determinado através de modificações mínimas de um método anteriormente publicado (Papafili A, et al., 2002, incorporado em sua totalidade aqui por referência)). A reação de PCR foi realizada em um volume total de 25 ul e continha 20 ng de DNA genômico, 500 pmoles de primers dianteiro e reverso, dNTPs a 0,2 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH de 8,4), KCl a 150 mM, MgCl2 a 1,0 mM e 1 unidade de polimerase (Life Technologies). Os tempos de ciclização foram incubações durante 3 min a 95°C, seguido por 33 ciclos de 50 s a 94°C, 60 s a 66°C e 60 s a 72°C. Um alongamento final de 10 min a 72°C, então, seguiu. 4 ul de produtos de PCR foram visualizados através de trans-iluminação com ultravioleta de um gel de agarose a 3% corado com brometo de etídio. Uma alíquota de 3 ul de produto de amplificação foi digerida durante 1 hora com 4 unidades de *Acil* (Roche Diagnostics, Nova Zelândia) a 37°C. Os produtos digeridos foram separados sobre um gel de agarose a 2,5% passado durante 2,0 horas a 80 mV com tampão TBE. Os produtos foram visualizados contra um ladder de 123 bp usando transiluminação com ultravioleta após coloração com brometo de etídio.

Genotipificação de polimorfismos1 -1607 1G/2G da metaloproteinase da matriz

DNA genômico foi extraído usando métodos padrão com fenol e clorofórmio. Grupos de pacientes e controles foram configurados em um formato de PCR com 96 cavidades contendo controles negativos estratégicos. Os detalhes de primers de ensaio, condições de PCR e ensaios RFLP foram anteriormente descritos [Dunleavey L, et al.]. Genotipificação foi feita usando modificações mínimas do protocolo acima otimizado para nossas condições de laboratório. As reações de PCR foram amplificadas em termociclizadores MJ Research em um volume total de 25 µl e continham 80 ng de

DNA genômico, 100 ng de primers dianteiro e reverso, dNTPs a 200 mM, Tris-HCl a 20 mM (pH de 8,4), KCl a 50 mM, $MgCl_2$ a 1,5 mM e 1,0 unidade de Taq polimerase (Qiagen). As seqüências dos primers dianteiro e reverso eram 5'-TCGTGAGAATGTCTTCCCATT-3' [SEQ.ID.NO. 1] e 5'-TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTGAAATC-3'[SEQ.ID.NO. 2]. As condições de ciclização consistiam em 94°C 60 s, 55°C 30s, 72°C 30 s durante 35 ciclos com uma extensão de duração prolongada de 3 min. Alíquotas do produto de amplificação foram digeridas durante 4 horas com 6 Unidades de enzimas de restrição *Xmnl* (Roche Diagnostics, Nova Zelândia) em condições de temperatura designadas. Os produtos digeridos foram separados sobre um gel de poliacrilamida a 6%. Os produtos foram visualizados através de transiluminação com ultravioleta, seguido por coloração com brometo de etídio e migração comparado contra um padrão de 1 Kb mais ladder (Invitrogen). Os genotipos foram registrados em folhas de dados e análise estatística realizada.

Genotipificação de polimorfismo usando o espectrômetro de massa Sequenom Autoflex

DNA genômico foi extraído de amostras de sangue inteiro (Maniatis,T., Fritsch, E. F. e Sambrook, J., Molecular Cloning Manual. 1989). DNA genômico purificado foi transformado em alíquota (concentração de 10 ng/ul) em lâminas com 96 cavidades e genotipificado em um sistema Sequenom® (Espectrômetro de massa Sequenom® Autoflex e nanodistribuidor Samsung de 24 pinos) usando as seguintes seqüências, condições e métodos de amplificação.

As seguintes condições foram usadas para a reação de PCR multiplex: concentrações finais eram para 10xTampão 1,25x $MgCl_2$ a 15 mM, MgCl2 a 25 mM 1,625 mM, mistura de dNTP a 25 mM 500 uM, primers a 100 nM 4 uM, Taq polimerase (Quiagen Hot Start) 0,15 U/reação, DNA genômico, 10 ng/ul. Os tempos de ciclização foram 95°C durante 15 min, (5°C durante 15 s, 56°C 30s, 72°C 30s durante 45 ciclos com um tempo de extensão prolongado de 3 min para terminar). Usou-se tratamento com fosfatase alcalina de camarão (SAP) (2 ul a 5 ul por reação de PCR) incubada a

35°C durante 30 min e reação de extensão (adicionar 2 ul a 7 ul após tratamento com SAP) com os seguintes volumes por reação de: água, 0,76 ul; tampão de término hME 10x, 0,2 ul; primer hME (10 uM), 1 ul; enzima MassEXTEND, 0,04 ul.

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos - 1

TERM	SNP_ID	2º-PCRP	1°-PCRP
ACT	CYP2E1_10 19 G/CPst1	ACGTTGGATGAAACCAGAGGGAAGCAAAGG [SEQ.ID.NO.3]	ACGTTGGATGTCATTGGTTGTGCTGCACCT [SEQ.ID.NO.4]
ACT	XPD -751 G/T	ACGTTGGATGCACCAGGAACCGTTTATGGC [SEQ.ID.NO.5]	ACGTTGGATGAGCAGCTAGAATCAGAGGAG [SEQ.ID.NO.6]
ACT	IL-18 105 A/C	ACGTTGGATGGTCAATGAAGAGAACTTGGTC [SEQ.ID.NO.7]	ACGTTGGATGAATGTTTATTGTAGAAAACC [SEQ.ID.NO.8]
ACT	IL-18 -133 G/C	ACGTTGGATGGGGTATTCATAAGCTGAAAC [SEQ.ID.NO.9]	ACGTTGGATGCCTTCAAGTTCAGTGGTCAG [SEQ.ID.NO.10]
ACT	CYP 1A1 Ile 462 Val	ACGTTGGATGGTGATTATCTTTGGCATGGG [SEQ.ID.NO.11]	ACGTTGGATGGGATAGCCAGGAAGAGAAAG [SEQ.ID.NO.12]
ACT	MMP12 Asn 357 Ser A/G	ACGTTGGATGCCCTATTTCTTTGTCTTCAC [SEQ.ID.NO.13]	ACGTTGGATGCTTGGGATAATTTGGCTCTG [SEQ.ID.NO.14]
ACT	OGG1 Ser 326 Cys G/C	ACGTTGGATGGGAACCCTTTCTGCGCTTTG [SEQ.ID.NO.15]	ACGTTGGATGCCTACAGGTGCTGTTCAGTG [SEQ.ID.NO.16]
ACT	NAT2 Arg 197 Gln A/G	ACGTTGGATGCCTGCCAAAGAAGAAACACC [SEQ.ID.NO.17]	ACGTTGGATGACGTCTGCAGGTATGTATTC [SEQ.ID.NO.18]

ACT	CYP2E1_C/T Rsa1	ACGTTGGATGGTTCTTAATTCATAGGTTGC [SEQ.ID.NO.19]	ACGTTGGATGCTTCATTTCTCATCATATTTTC [SEQ.ID.NO.20]
ACG	CCND1 A870G	ACGTTGGATGTAGGTGTCTCCCCCTGTAAG [SEQ.ID.NO.21]	ACGTTGGATGTCCTCTCCAGAGTGATCAAG [SEQ.ID.NO.22]
ACG	ILB1 -511 A/G	ACGTTGGATGATTTTCTCCTCAGAGGCTCC [SEQ.ID.NO.23]	ACGTTGGATGTGTCTGTATTGAGGGTGTGG [SEQ.ID.NO.24]
ACG	FAS_A-670G	ACGTTGGATGTTGTGGCTGCAACATGAGAG [SEQ.ID.NO.25]	ACGTTGGATGCTATGGCGCAACATCTGTAC [SEQ.ID.NO.26]
ACG	NOS3 -786 T/C	ACGTTGGATGACTGTAGTTTCCCTAGTCCC [SEQ.ID.NO.27]	ACGTTGGATGAGTCAGCAGAGAGACTAGGG [SEQ.ID.NO.28]
ACT	ACT_Ala15Thr	ACGTTGGATGGAGTTGAGAATGGAGAGAATG [SEQ.ID.NO.29]	ACGTTGGATGTCAAGTGGGCTGTTAGGGTG [SEQ.ID.NO.30]
ACT	SOD3 Arg 312 Gln	ACGTTGGATGTGCTGCGTGGTGGGCGTGTG [SEQ.ID.NO.31]	ACGTTGGATGGGCCTTGCACTCGCTCTCG [SEQ.ID.NO.32]
ACT	NOS3 Asp 298 Glu	ACGTTGGATGAAACGGTCGCTTCGACGTGC [SEQ.ID.NO.33]	ACGTTGGATGACCTCAAGGACCAGCTCGG [SEQ.ID.NO.34]
CGT	IL-8 -251 A/T	ACGTTGGATGACTGAAGCTCCACAATTTGG [SEQ.ID.NO.35]	ACGTTGGATGGCCACTCTAGTACTATATCTG [SEQ.ID.NO.36]

CGT	IFNY gama 874 A/T	ACGTTGGATGCAGACATTCACAATTGATTT [SEQ.ID.NO.37]	ACGTTGGATGGATAGTTCCAAACATGTGCG [SEQ.ID.NO.38]
ACT	XRCC1 Arg 399 Gln G/A	ACGTTGGATGTAAGGAGTGGGTGCTGGACT [SEQ.ID.NO.39]	ACGTTGGATGAGGATAAGGAGCAGGGTTGG [SEQ.ID.NO.40]

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 2

SNP_ID	AMP_LEN	UP_CONF	MP_CONF	Tm(NN)	PcGC	PWARN	UEP_DIR	UEP_MASS
CYP2E1_1019G/CPst1	119	95,2	71,3	46,7	47,1		F	5256,4
XPD -751 G/T	113	97,6	71,3	49,8	47,4		F	5689,7
IL-18 105 A/C	120	65,6	71,3	49,8	36,4		R	6702,4
IL-18 -133 G/C	112	93,5	81,3	47,1	42,1		F	5811,8
CYP 1A1 Ile 462 Val	102	98,2	81,3	55,6	55		F	6222,1
MMP12 Asn 357 Ser A/G	95	92,6	81,3	48	30,4		F	7070,6
OGG1 Ser 326 Cys G/C	99	96,5	82,2	58,9	70,6		R	5227,4
NAT2 Arg 197 Gln A/G	115	97,4	70	48,5	36,4		F	6635,3
CYP2E1_C/T Rsa1	105	62,8	77,8	46,4	26,1		R	7018,6
CCND1 A870G	106	98,1	83	45,8	47,1		R	5034,3
ILB1 -511 A/G	111	99,2	83	46	47,1		R	5203,4
FAS_A-670G	103	99,2	83	54,4	50		R	6166
NOS3 -786 T/C	114	97,5	83	61,8	61,9		F	6358,1
ACT_Ala15Thr	118	93,4	68,2	45,2	47,1		F	5136,4

SOD3 Arg 312 Gln	119	63,2	68,2	55,5	57,9	F	5855,8
NOS3 Asp 298 Glu	113	82,2	68,2	65,4	66,7	F	6432,2
IL-8 -251 A/T	119	92,6	75,8	45,9	28,6	R	6428,2
IFNY gama 874 A/T	112	75,3	75,8	46,4	26,1	F	6943,6
XRCC1 Arg 399 Gln G/A	109	93,6	93,6	66,8	82,4	F	5099,3

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 3

SNP_ID	UEP_SEQ	EXT1_ CALL	EXT1_ MASS	EXT1_SEQ	EXT2_ CALL
CYP2E1_1019G/CPst1	TTCTTGGTTCAGGAGAG [SEQ.ID.NO.41]	C	5529,6	TTCTTGGTTCAGGAGAGC [SEQ.ID.NO.42]	G
XPD -751 G/T	GCAATCTGCTCTATCCTCT [SEQ.ID.NO.43]	T	5977,9	GCAATCTGCTCTATCCTCTT [SEQ.ID.NO.44]	G
IL-18 105 A/C	ATTCAAGCTTGCCAAAGTAATC [SEQ.ID.NO.45]	A	6990,6	ATTCAAGCTTGCCAAAGTAATCT [SEQ.ID.NO.46]	C
IL-18 -133 G/C	CATAAGCTGAAACTTCTGG [SEQ.ID.NO.47]	C	6085	CATAAGCTGAAACTTCTGGC [SEQ.ID.NO.48]	G
CYP 1A1 Ile 462 Val	GGAAGTGTATCGGTGAGACC [SEQ.ID.NO.49]	A	6519,3	GGAAGTGTATCGGTGAGACCA [SEQ.ID.NO.50]	G
MMP12 Asn 357 Ser A/G	TGACAAATACTGGTTAATTAGCA [SEQ.ID.NO.51]	A	7367,8	TGACAAATACTGGTTAATTAGCAA [SEQ.ID.NO.52]	G
OGG1 Ser 326 Cys G/C	GCTCCTGAGCATGGCGG [SEQ.ID.NO.53]	G	5500,6	GCTCCTGAGCATGGCGGC [SEQ.ID.NO.54]	C
NAT2 Arg 197 Gln A/G	TACTTATTTACGCTTGAACCTC [SEQ.ID.NO.55]	A	6932,5	TACTTATTTACGCTTGAACCTCA [SEQ.ID.NO.56]	G
CYP2E1_C/T Rsa1	CTTAATTCATAGGTTGCAATTTT [SEQ.ID.NO.57]	T	7315,8	CTTAATTCATAGGTTGCAATTTTA [SEQ.ID.NO.58]	C
CCND1 A870G	ACATCACCCTCACTTAC [SEQ.ID.NO.59]	G	5307,5	ACATCACCCTCACTTACC [SEQ.ID.NO.60]	A

ILB1 -511 A/G	AATTGACAGAGAGCTCC [SEQ.ID.NO.61]	G	5476,6	AATTGACAGAGAGCTCCC [SEQ.ID.NO.62]	A
FAS_A-670G	ATGAGAGGCTCACAGACGTT [SEQ.ID.NO.63]	G	6439,2	ATGAGAGGCTCACAGACGTTC [SEQ.ID.NO.64]	A
NOS3 -786 T/C	GGCATCAAGCTCTTCCCTGGC [SEQ.ID.NO.65]	C	6631,3	GGCATCAAGCTCTTCCCTGGCC [SEQ.ID.NO.66]	T
ACT_Ala15Thr	GAATGTTACCTCTCCTG [SEQ.ID.NO.67]	A	5433,6	GAATGTTACCTCTCCTGA [SEQ.ID.NO.68]	G
SOD3 Arg 312 Gln	GCACTCAGAGCGCAAGAAG [SEQ.ID.NO.69]	C	6129	GCACTCAGAGCGCAAGAAGC [SEQ.ID.NO.70]	G
NOS3 Asp 298 Glu	GCTGCTGCAGGCCCCAGATGA [SEQ.ID.NO.71]	T	6720,4	GCTGCTGCAGGCCCCAGATGAT [SEQ.ID.NO.72]	G
IL-8 -251 A/T	CACAATTTGGTGAATTATCAA [SEQ.ID.NO.73]	A	6716,4	CACAATTTGGTGAATTATCAAT [SEQ.ID.NO.74]	T
IFNY gama 874 A/T	TTCTTACAACACAAAATCAAATC [SEQ.ID.NO.75]	T	7231,8	TTCTTACAACACAAAATCAAATCT [SEQ.ID.NO.76]	A
XRCC1 Arg 399 Gln G/A	TCGGCGGCTGCCCTCCC [SEQ.ID.NO.77]	A	5396,5	TCGGCGGCTGCCCTCCCA [SEQ.ID.NO.78]	G

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 4

SNP_ID	EXT2_MASS	EXT2_SEQ	1ª PAUSA
CYP2E1_1019G/CPst1	5873.8	TTCTTGGTTCAGGAGAGGT [SEQ.ID.NO.79]	5585,6
XPD -751 G/T	6292.1	GCAATCTGCTCTATCCTCTGC [SEQ.ID.NO.80]	6018,9
IL-18 105 A/C	7658	ATTCAAGCTTGCCAAAGTAATCGGA [SEQ.ID.NO.81]	7031,6
IL-18 -133 G/C	6438.2	CATAAGCTGAAACTTCTGGGA [SEQ.ID.NO.82]	6141
CYP 1A1 Ile 462 Val	6839.5	GGAAGTGTATCGGTGAGACCGT [SEQ.ID.NO.83]	6551,3
MMP12 Asn 357 Ser A/G	7688	TGACAAATACTGGTTAATTAGCAGT [SEQ.ID.NO.84]	7399,8
OGG1 Ser 326 Cys G/C	5853.8	GCTCCTGAGCATGGCGGGA [SEQ.ID.NO.85]	5556,6
NAT2 Arg 197 Gln A/G	7261.8	TACTTATTTACGCTTGAACCTCGA [SEQ.ID.NO.86]	6964,5
CYP2E1_C/T Rsa1	7636	CTTAATTCATAGGTTGCAATTTTGT [SEQ.ID.NO.87]	7347,8
CCND1 A870G	5651.7	ACATCACCCTCACTTACTG [SEQ.ID.NO.88]	5338,5
ILB1 -511 A/G	5820.8	AATTGACAGAGAGCTCCTG [SEQ.ID.NO.89]	5507,6
FAS_A-670G	6743.4	ATGAGAGGCTCACAGACGTTTC [SEQ.ID.NO.90]	6470,2
NOS3 -786 T/C	6975.5	GGCATCAAGCTCTTCCCTGGCTG [SEQ.ID.NO.91]	6662,3
ACT_Ala15Thr	5738.7	GAATGTTACCTCTCCTGGC [SEQ.ID.NO.92]	5465,6
SOD3 Arg 312 Gln	7116.6	GCACTCAGAGCGCAAGAAGGGGC [SEQ.ID.NO.93]	6185
NOS3 Asp 298 Glu	7034.6	GCTGCTGCAGGCCCCAGATGAGC [SEQ.ID.NO.94]	6761,4

IL-8 -251 A/T	7029.6	CACAATTTGGTGAATTATCAAAT [SEQ.ID.NO.95]	6741,4
IFNY gama 874 A/T	7530	TTCTTACAACACAAAATCAAATCAC [SEQ.ID.NO.96]	7256,8
XRCC1 Arg 399 Gln G/A	6054.9	TCGGCGGCTGCCCTCCCGGA [SEQ.ID.NO.97]	5428,5

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 5

TERM	SNP_ID	2°-PCRP	1°-PCRP
ACT	CTGF-447G/C	ACGTTGGATGAGGTAGCTGAAGAGGCAA-AC [SEQ.ID.NO.98]	ACGTTGGATGGCCTATAGCCTCTAAAACGC [SEQ.ID.NO.99]
ACT	NBS1 Gln185Glu G/C	ACGTTGGATGCTTTCAATTTGTGGAGGCTG [SEQ.ID.NO.100]	ACGTTGGATGTGTGCACTCATTTGTGGACG [SEQ.ID.NO.101]
ACT	MBL2 161 G/A	ACGTTGGATGGTAGCTCTCCAGGCATCA-AC [SEQ.ID.NO.102]	ACGTTGGATGGTACCTGGTTCCCCCTTTTC [SEQ.ID.NO.103]
ACT	IGF2R Leu252Val C/G	ACGTTGGATGACACCAGGCGTTT-GATGTTG [SEQ.ID.NO.104]	ACGTTGGATGAAAAACGCCAACAG-CATCGG [SEQ.ID.NO.105]
ACT	MUC5AC -221 C/T	ACGTTGGATGAGGCGGAGATGGGTGTGTC [SEQ.ID.NO.106]	ACGTTGGATGAGTCTAGGGTGGGG-TATGTG [SEQ.ID.NO.107]
ACT	Arg1 íntron1 C/T	ACGTTGGATGATGTGTGGATTCA-CAGCTCG [SEQ.ID.NO.108]	ACGTTGGATGGGGTTGGCAACTCTAAA-AGG [SEQ.ID.NO.109]
ACT	REV1 Phe257Ser C/T	ACGTTGGATGCTCTGAAATCAGTGCTGCTC [SEQ.ID.NO.110]	ACGTTGGATGATGGTCAACAGTGTTGC-CAG [SEQ.ID.NO.111]
ACT	Apex1 Asp148Glu G/T	ACGTTGGATGCACCTCTTGATTGCTTTCCC [SEQ.ID.NO.112]	ACGTTGGATGACCCGGCCTTCCTGAT-CATG [SEQ.ID.NO.113]
ACG	IL-10 -1082 A/G	ACGTTGGATGATTCCATGGAGGCTGGA-TAG [SEQ.ID.NO.114]	ACGTTGGATGGACAACACTACTAAGGCTTC [SEQ.ID.NO.115]

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 6

SNP_ID	AMP_LEN	UP_CONF	MP_CONF	Tm(NN)	PcGC	PWARN	UEP_DIR	UEP_MASS
CTGF-447G/C	119	98,2	65	52	52,9		R	5090,3
NBS1 Gln185Glu G/C	118	97	65	51	52,9		R	5192,4
MBL2 161 G/A	99	96,8	65	50,3	52,9		F	5299,5
IGF2R Leu252Val C/G	114	98,5	67,8	68,6	82,4		F	5206,4
MUC5AC -221 C/T	119	81,8	67,8	56,9	64,7	g	R	5273,4
Arg1 íntron1 C/T	102	99,6	67,8	53,3	52,6		R	5932,9
REV1 Phe257Ser C/T	105	99,6	67,8	57,5	55		R	6003,9
Apex1 Asp148Glu G/T	114	92,9	67,8	46,8	35		F	6113
IL-10 -1082 A/G	107	98	68,8	51,2	58,8		R	4977,2

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 7

SNP_ID	UEP_SEQ	EXT1_ CALL	EXT1_ MASS	EXT1_SEQ
CTGF-447G/C	AAAAGGTTTCTCCCCCC [SEQ.ID.NO.116]	G	5363,5	AAAAGGTTTCTCCCCCCC [SEQ.ID.NO.117]
NBS1 Gln185Glu G/C	AGGCTGCTTCTTGGACT [SEQ.ID.NO.118]	G	5465,6	AGGCTGCTTCTTGGACTC [SEQ.ID.NO.119]
MBL2 161 G/A	CAAAGATGGGCGTGATG [SEQ.ID.NO.120]	A	5596,7	CAAAGATGGGCGTGATGA [SEQ.ID.NO.121]
IGF2R Leu252Val C/G	GCCAGCCCCGGGACGGA [SEQ.ID.NO.122]	C	5479,6	GCCAGCCCCGGGACGGAC [SEQ.ID.NO.123]
MUC5AC -221 C/T	ATGGGTGTGTCTGCCGG [SEQ.ID.NO.124]	T	5570,6	ATGGGTGTGTCTGCCGGA [SEQ.ID.NO.125]
Arg1 íntron1 C/T	GGCTGTAAGGAAATCTGGG [SEQ.ID.NO.126]	T	6230,1	GGCTGTAAGGAAATCTGGGA [SEQ.ID.NO.127]
REV1 Phe257Ser C/T	CCTTATCCTCCTCCTGGGAA [SEQ.ID.NO.128]	T	6301,1	CCTTATCCTCCTCCTGGGAAA [SEQ.ID.NO.129]
Apex1 Asp148Glu G/T	TGTTTCATTTCTATAGGCGA [SEQ.ID.NO.130]	T	6401,2	TGTTTCATTTCTATAGGCGAT [SEQ.ID.NO.131]
IL-10 -1082 A/G	CCTATCCCTACTTCCCC [SEQ.ID.NO.132]	G	5250,4	CCTATCCCTACTTCCCCC [SEQ.ID.NO.133]

Condições Sequenom para genotipificação de polimorfismos – 8

SNP_ID	EXT2_CALL	EXT2_MASS	EXT2_SEQ	1ª PAUSA
CTGF-447G/C	C	5716.7	AAAAGGTTTCTCCCCCCGA [SEQ.ID.NO.134]	5419,5
NBS1 Gln185Glu G/C	C	5818.8	AGGCTGCTTCTTGGACTGA [SEQ.ID.NO.135]	5521,6
MBL2 161 G/A	G	5901.9	CAAAGATGGGCGTGATGGC [SEQ.ID.NO.136]	5628,7
IGF2R Leu252Val C/G	G	5823.8	GCCAGCCCCGGGACGGAGT [SEQ.ID.NO.137]	5535,6
MUC5AC -221 C/T	C	5890.8	ATGGGTGTGTCTGCCGGGT [SEQ.ID.NO.138]	5602,6
Arg1 íntron1 C/T	C	6879.5	GGCTGTAAGGAAATCTGGGGGT [SEQ.ID.NO.139]	6262,1
REV1 Phe257Ser C/T	C	6630.3	CCTTATCCTCCTCCTGGGAAGA [SEQ.ID.NO.140]	6333,1
Apex1 Asp148Glu G/T	G	7068.6	TGTTTCATTTCTATAGGCGAGGA [SEQ.ID.NO.141]	6442,2
IL-10 -1082 A/G	A	5858.8	CCTATCCCTACTTCCCCTTC [SEQ.ID.NO.142]	5281,4

RESULTADOS

Tabela 1a. Polimorfismo do alelo Asp 298 Glu (T/G) em sintase de óxido nítrico 3 e freqüências de genotipo nos pacientes com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	T	G	TT	TG	GG
Controles n = 183 (%)	108 (30%)	258 (70%)	13 (7%)	82 (45%)	88 (48%)
Câncer de pulmão n = 107 (%)	71 (33%)	143 (67%)	9 (8%)	53 (50%)	45 (42%)
Resistente n = 198 (%)	135 (34%)	261 (66%)	28[1, 2] (14%)	79 (40%)	91 (46%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. TT vs TG/GG para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 1,8, limites de confiança de 95% 0,8-4,3, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,14, p = 0,14.

Genotipo TT = protetor para câncer de pulmão

2. Genotipo. TT vs TG/GG para resistente vs controles, Razão de chances (OR) = 2,2, limites de confiança de 95% 1,0-4,6, χ^2 (Yates corrigido) = 4,2, p = 0,04.

Genotipo TT = protetor para câncer de pulmão

Tabela 1b. Polimorfismo do alelo -786 T/C de sintase de óxido nítrico 3 e freqüências de genotipo nos pacientes com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	T	CC	CT	TT
Controles n = 183 (%)					
Câncer de pulmão n = 107 (%)	82 (38%)	132 (62%)	16 (15%)	50 (47%)	41[1] (38%)
Resistente n = 198 (%)	166 (42%)	228 (58%)	31 (16%)	104 (53%)	62 (31%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. TT vs CC/CT para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% 0,8-2,3, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,45, p = 0,23.

Genotipo TT = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 2. polimorfismo no alelo Arg 312 Gln C/G de Superóxido de dismutase 3 e freqüências de genotipo no câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	G	CC	CG	GG
Controles n = 190 (%)	371 (98%)	9 (2%)	183 (96%)	5 (3%)	2 (1%)
Câncer de pulmão n = 104 (%)	208 (100%)	0 (0%)	104 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Resistente n = 182 (%)	390 (98%)	10 (3%)	191 (95%)	8[1] (4%)	1[1] (1%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo CG/GG vs CC para resistente vs câncer de pulmão, Yates não corrigido = 3,38, P = 0,07 e Teste duplamente configurado de Fisher, P = 0,03.

CG/GG = protetor para câncer de pulmão

Tabela 3. Polimorfismo no alelo Arg 399 Gln A/G de XRCC1 e freqüências de genotipo no câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Controles n = 190 (%)					
Câncer de pulmão n = 103 (%)	68 (33%)	138 (67%)	4 (4%)	60 (58%)	39 (38%)
Resistente n = 193 (%)	132 (34%)	254 (66%)	18[1] (9%)	96 (50%)	79 (41%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AA vs AG/GG para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 2,6, limites de confiança de 95% 0,8-9,2, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,89, p = 0,09.

AA genotipo = protetor para câncer de pulmão

Tabela 4. Polimorfismo no alelo -251 A/T de interleucina 8 e freqüências de genotipo no câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	T	AA	AT	TT
Controles n = 188 (%)	175 (47%)	201 (53%)	39 (21%)	97 (52%)	52 (28%)
Câncer de pulmão n = 90	68 (38%)	112 (62%)	6 (7%)	56 (52%)	28 (31%)
Resistente n = 199 (%)	192[2] (48%)	206 (52%)	45[1] (23%)	102 (51%)	52 (26%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AA vs AT/TT para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 4,1, limites de confiança de 95% = 1,6 = 11,2, χ^2 (Yates corrigido) = 9,8, p = 0,002.

AA = protetor para câncer de pulmão

2. Alelo. A vs T para fumantes resistentes vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 1,5, limites de confiança de 95% 1,0-2,2, χ^2 (Yates corrigido) = 5,07, p = 0,02

A = protetor para câncer de pulmão

Tabela 5. polimorfismo do alelo Ala -15 Thr de antiquimiotripsina e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Câncer de pulmão n = 108	99 (46%)	117[2] (54%)	24 (22%)	51 (47%)	33[1] (31%)
Resistente n = 196 (%)	207 (53%)	185 (47%)	52 (27%)	103 (53%)	41 (21%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs AA/AG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,7, limites de confiança de 95% = 0,9-2,9, χ^2 (Yates não corrigido) = 3,51, p = 0,06.

GG = suscetível a câncer de pulmão

2. Alelo. G vs A para câncer de pulmão vs fumantes resistentes, Razão de chances (OR) = 1,3, limites de confiança de 95% 0,9-1,9, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,71, p = 0,10.

G = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 6. polimorfismo de alelo A 870 G de Ciclina D1 (CCND1) e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Câncer de pulmão n = 107	109 (51%)	105 (49%)	25[2] (23%)	59 (55%)	23 (21%)
Resistente n = 199 (%)	188 (47%)	210 (53%)	45 (23%)	98 (49%)	56[1] (28%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs AG/AA para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% = 0,8-2,6, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,6, p = 0,20.

GG = protetor para câncer de pulmão

2. Genotipo. AG/AA vs GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% = 0,8-2,6, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,6, p = 0,20.

AA = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 7. Polimorfismo do alelo -511 A/G de interleucina 1B (IL-1b) e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Câncer de pul-	64	150	12	40 (37%)	55[1]

mão n = 107	(30%)	(70%)	(11%)		(51%)
Resistente n = 198 (%)	143 (36%)	253 (64%)	23 (12%)	97 (49%)	78 (39%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs AA/AG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,6, limites de confiança de 95% = 1-2,7, χ^2 (Yates não corrigido) = 4,07, p = 0,04.

GG = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 8. Polimorfismo do alelo A -670 G de FAS (Apo-1/CD 95) e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Câncer de pulmão n = 106	121[2] (57%)	91 (43%)	32[1] (30%)	57 (54%)	17 (16%)
Resistente n = 198 (%)	202 (51%)	194 (49%)	45 (23%)	112 (57%)	41 (21%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AA vs AG/GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,5, limites de confiança de 95% = 0,8-2,6, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,03, p = 0,15.

AA = suscetibilidade a câncer de pulmão

2. Alelo. A vs G para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,3, limites de confiança de 95% 0,9-1,8, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,04, p = 0,1.

A = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 9. Polimorfismo do alelo T/G de XPD 751 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	T	GG	TG	TT
Câncer de pul-	72	144	11 (10%)	50 (46%)	47 (44%)

mão n = 108	(33%)	(66%)			
Resistente n = 197 (%)	147 (37%)	247 (63%)	31[1] (16%)	85 (43%)	81 (41%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs TG/TT para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 1,7, limites de confiança de 95% = 0,8-3,7, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,81, p = 0,18.

GG = protetor para câncer de pulmão

Tabela 10. Polimorfismo do alelo Ile 462 Val G/A de Citocroma P450 1A1e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	A	GG	AG	AA
Câncer de pulmão n = 109	5 (2%)	213 (98%)	0 (0%)	5 (5%)	104[1] (95%)
Resistente n = 199 (%)	20 (5%)	378 (95%)	13[1] (1%)	18[1] (9%)	180 (90%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AG/GG vs AA para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 2,2, limites de confiança de 95% = 0,7-6,9, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,41, p = 0,12.

GG/AG = protetor para câncer de pulmão,

AA = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 11. Polimorfismo do alelo Asn 357 Ser de MMP12 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	A	GG	AG	AA
Câncer de pulmão n = 109	8 (4%)	210 (96%)	1 (1%)	6 (5%)	102 (94%)
Resistente n = 199 (%)	21 (5%)	377 (95%)	0[1] (0%)	21[1] (11%)	178 (89%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG/AG vs AA para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 1,7, limites de confiança de 95% = 0,7-4,6, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,45, p = 0,23.

GG/AG = protetor para câncer de pulmão

Tabela 12. Polimorfismo do alelo Ser 326 Cys C/G de glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1) e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	C	GG	CG	CC
Câncer de pulmão n = 109	40 (18%)	178 (82%)	2 (2%)	36 (33%)	71 (65%)
Resistente n = 199 (%)	100 (25%)	298 (75%)	14[1] (7%)	72 (36%)	113 (57%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs CG/CC para resistente vs câncer de pulmão, Razão de chances (OR) = 4,0, limites de confiança de 95% = 0,9-26,3, χ^2 (Yates não corrigido) = 3,87, p = 0,05.

GG = protetor para câncer de pulmão

Tabela 13. Polimorfismo do alelo Arg 197 Gln G/A de N-Acetiltransferase 2 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	G	AA	AG	GG
Câncer de pulmão n = 106	55 (26%)	157 (74%)	9 (8%)	37 (35%)	60[1] (57%)
Resistente n = 195 (%)	122 (31%)	268 (69%)	17 (9%)	88 (45%)	90 (46%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs AG/AA para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,5, limites de confiança de 95% = 0,9-2,5, χ^2 (Yates não corrigido) = 3,0, p = 0,08.

GG = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 14a. polimorfismo do alelo 1019 G/C Pst1 de Citocroma P450 2E1 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	G	CC	CG	GG
Câncer de pulmão n = 109	10 (5%)	208 (95%)	0 (0%)	10[1] (9%)	99 (91%)
Resistente n = 197 (%)	11 (3%)	383 (97%)	0 (0%)	11 (6%)	186 (94%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. CG vs GG para câncer de pulmão e resistente, Razão de chances (OR) = 1,7, limites de confiança de 95% = 0,7-4,5, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,42, p = 0,23.

CG = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 14b. Polimorfismo do alelo C/T Rsa I de Citocroma P450 2E1 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	T	C	TT	TC	CC
Câncer de pulmão n = 108	11 (5%)	205 (95%)	0 (0%)	11[1] (10%)	97 (90%)
Resistente n = 198 (%)	11 (3%)	385 (97%)	0 (0%)	11 (6%)	187 (94%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. TC vs CC para câncer de pulmão e resistente, Razão de chances (OR) = 1,9, limites de confiança de 95% = 0,8-5,0, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,24, p = 0,13.

TC = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 15a. Polimorfismo do alelo 105 A/C de Interleucina 18 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	A	CC	AC	AA
Câncer de pulmão n = 107	50 (23%)	164 (77%)	8 (8%)	34 (33%)	65[1] (61%)
Resistente n = 200 (%)	116 (29%)	284 (71%)	17[1] (9%)	82[1] (41%)	101 (50%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AA vs AC/CC para câncer de pulmão e resistente, Razão de chances (OR) = 1,6, limites de confiança de 95% = 1,0-2,6, χ^2 (Yates não corrigido) = 3,51, p = 0,06.

AA = suscetibilidade a câncer de pulmão

AC/CC = protetor para câncer de pulmão

Tabela 15b. Polimorfismo do alelo -133 C/G de Interleucina 18 e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	C	GG	CG	CC
Câncer de pulmão n = 109	52 (24%)	166 (76%)	8 (7%)	36 (33%)	65[1] (60%)
Resistente n = 198 (%)	117 (30%)	279 (70%)	17[1] (9%)	83[1] (42%)	98 (49%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. CC vs CG/GG para câncer de pulmão e resistente, Razão de chances (OR) = 1,5, limites de confiança de 95% = 0,9-2,5, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,90, p = 0,09.

CC = suscetibilidade a câncer de pulmão

CG/GG = protetor para câncer de pulmão

Tabela 16. Polimorfismo do alelo nulo de S-transferase M de glutationa e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*	
	Nulo	Tipo silvestre
Controles n = 178	75 (42%)	103 (58%)
Câncer de pulmão n = 107	67[1] (58%)	48 (42%)
Resistente n = 182	100 (55%)	82 (45%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. Nulo vs tipo silvestre para câncer de pulmão e controles, Razão de chances (OR) = 1,92, limites de confiança de 95% = 1,2-3,2, χ^2 (Yates corrigido) = 6,64, p = 0,01.

Nulo = suscetibilidade a câncer de pulmão

Tabela 17. Polimorfismo do alelo 874 A/T de Interferon-gama e freqüências de genotipo em indivíduos com câncer de pulmão, fumantes resistentes e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	A	T	AA	AT	TT
Controles n = 186 (%)	183 (49%)	189 (51%)	37 (20%)	109 (58%)	40 (22%)
Câncer de pulmão n = 106 (%)	116 (55%)	96 (45%)	34[1, 2] (32%)	48 (45%)	24 (23%)
Resistente n = 196 (%)	209 (53%)	183 (47%)	50 (26%)	109 (56%)	37 (19%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AA vs AT/TT para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% 0,8-2,4, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,48, p = 0,22.

AA genotipo = suscetível a câncer de pulmão

2. Genotipo. AA vs AT/TT para câncer de pulmão vs controles, Razão de chances (OR) = 1,9, limites de confiança de 95% 1,1-3,4, χ^2 (Yates corrigido) = 5,45, p = 0,02.

AA genotipo = suscetível a câncer de pulmão

Tabela 18. Polimorfismo no alelo de ciclooxigenase 2 e genotipo freqüência nos pacientes com câncer de pulmão, fumantes resistentes expostos e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	G	CC	CG	GG
Controles n = 95 (%)	27 (14%)	161 (86%)	3 (3%)	21 (22%)	70 (75%)
Câncer de pulmão n = 109 (%)	34 (16%)	184 (84%)	5 (5%)	24 (22%)	80 (73%)
Resistente n = 158 (%)	75 (24%)	241 (76%)	11 (7%)	53 (34%)	94 (59%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. CC/CG vs GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,53, limites de confiança de 95% = 0,3-0,9, χ^2 (Yates corrigido) = 4,9, p = 0,03

CC/CG = protetor

2. Alelo. C vs G para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,59, limites de confiança de 95% 0,4- 0,9, χ^2 (Yates corrigido) = 4,8, p = 0,03.

C = protetor

3. Genotipo. GG vs CG/CC para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,88, limites de confiança de 95% = 1,1-3,3, χ^2 (Yates corrigido) = 4,9, p = 0,03

GG = suscetibilidade

4. Alelo. G vs C para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,7, limites de confiança de 95% 1,1- 2,7, χ^2 (Yates corrigido) = 4,8, p = 0,03.

G = suscetibilidade

Tabela 19. Polimorfismo do alelo -1607 1G/2G de metaloproteinase da matriz 1 (MMP1) e freqüências de genotipo em pacientes com câncer de pulmão, fumantes resistentes expostos e controles.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	1G	2G	1G1G	1G2G	2G2G
Controles n = 174 (%)	214 (61%)	134 (39%)	68 (39%)	78 (45%)	28 (16%)
Câncer de pulmão n = 67 (%)	58 (43%)	76 (57%)	13 (19%)	32 (48%)	22 (33%)
Resistente n = 171 (%)	167 (49%)	175 (51%)	41 (24%)	85 (50%)	45 (26%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. 2G2G vs 1G1G/1G2G para câncer de pulmão vs controles, Razão de chances (OR) = 2,58, limites de confiança de 95% 1,3-5,2, χ^2 (Yates não corrigido) = 7,5, p = 0,006

2G2G genotipo = suscetibilidade

2. Alelo. 2G vs 1G para câncer de pulmão vs controles, Razão de chances (OR) = 2,1, limites de confiança de 95% 1,4-3,2, χ^2 (Yates corrigido) = 12,3, p = 0,0004.

2G = suscetibilidade

Tabela 20. polimorfismo do alelo -447 G/C do fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF) e freqüências de genotipo em câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	**Alelo***		**Genotipo**		
	G	C	GG	GC	CC
Câncer de pulmão n = 109 (%)	201 (92%)	17 (8%)	92 (84%)	17 (16%)	0 (0%)
Resistente n = 200 (%)	379 (95%)	21 (5%)	179 (90%)	21 (10%)	0 (0%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GC/CC vs GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,6, limites de confiança de 95% 0,8-3,3, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,70, p = 0,19.

GC/CC genotipo = suscetibilidade (tendência)

Tabela 21. Polimorfismo do alelo -221 C/T de Mucina 5AC (Muc5AC) e

freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	C	T	CC	CT	TT
Câncer de pulmão n = 109 (%)	177 (81%)	41 (19%)	73 (67%)	31 (28%)	5 (5%)
Resistente n = 195 (%)	296 (76%)	94 (24%)	119 (61%)	58 (30%)	18 (9%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. TT vs CC/CT para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,47, limites de confiança de 95% 0,2-1,4, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,16, p = 0,14.

Genotipo TT = protetor (tendência)

Tabela 22. Polimorfismo do alelo 161 G/A de Lectina de ligação à manose (MBL2) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	A	GG	AG	AA
Câncer de pulmão n = 105 (%)	173 (82%)	37 (18%)	71 (67%)	31 (30%)	3 (3%)
Resistente n = 197 (%)	338 (86%)	56 (14%)	147 (75%)	44 (22%)	6 (3%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. AG/AA vs GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% 0,8-2,4, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,67, p = 0,20.

AG/AA genotipo = suscetibilidade (tendência)

Tabela 23. Polimorfismo do alelo Gln185Glu G/C de Nibrina (NBS1) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	C	GG	GC	CC
Câncer de pulmão	150	68 (31%)	54	42	13

n = 109 (%)	(69%)		(50%)	(39%)	(12%)
Resistente n = 199 (%)	295 (74%)	103 (26%)	107 (54%)	81 (41%)	11 (6%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. CC vs CG/GG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 2,3, limites de confiança de 95% 0,9-5,8, χ^2 (Yates não corrigido) = 4,01, p = 0,05.

CC genotipo = suscetibilidade

Tabela 24. Polimorfismo do alelo íntron 1 C/T de Arginase 1 (Arg1) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	**Alelo***		**Genotipo**		
	C	T	CC	CT	TT
Câncer de pulmão n = 105 (%)	137 (65%)	73 (35%)	45 (43%)	47 (45%)	13 (12%)
Resistente n = 180 (%)	203 (56%)	157 (44%)	65 (36%)	73 (41%)	42 (23%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. TT vs CC/CT para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,46, limites de confiança de 95% 0,2-0,95, χ^2 (Yates não corrigido) = 5,11, p = 0,02.

Genotipo TT = protetor

2. Alelo. T vs C para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,69, limites de confiança de 95% 0,5-1,0, χ^2 (Yates corrigido) = 3,96, p = 0,05.

Alelo T = protetor

Tabela 25. Polimorfismo do alelo Phe257Ser C/T de REV1 e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	**Alelo***		**Genotipo**		
	C	T	CC	CT	TT
Câncer de pulmão n = 109 (%)	129 (59%)	89 (41%)	39 (36%)	51 (47%)	19 (17%)
Resistente n = 192	242 (63%)	142	83	76	33

(%)		(37%)	(43%)	(40%)	(17%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. CC vs CT/TT para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,73, limites de confiança de 95% 0,4-1,2, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,6, p = 0,20.

CC genotipo = protetor (tendência)

Tabela 26. Polimorfismo do alelo Leu252Val C/G do receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	**Alelo***		**Genotipo**		
	C	G	CC	CG	GG
Câncer de pulmão n = 109 (%)	190 (87%)	28 (13%)	82 (75%)	26 (24%)	1 (1%)
Resistente n = 198 (%)	342 (86%)	54 (14%)	150 (76%)	42 (21%)	6 (3%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs CC/CG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,30, limites de confiança de 95% 0,01-2,5, χ^2 (Yates não corrigido) = 1,41, p = 0,22 (t-teste 1-configurado),

GG genotipo = protetor (tendência)

Tabela 27. Polimorfismo do alelo Asp148Glu T/G de nuclease Apex (APE1) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	**Alelo***		**Genotipo**		
	T	G	TT	TG	GG
Câncer de pulmão n = 109 (%)	124 (57%)	94 (43%)	39 (36%)	46 (42%)	24 (22%)
Resistente n = 192 (%)	229 (60%)	155 (40%)	69 (36%)	91 (47%)	32 (17%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs TT/TG para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 1,4, limites de confiança de 95% 0,8-2,7, χ^2 (Yates não

corrigido) = 1,3, p = 0,25.

GG genotipo = suscetibilidade (tendência)

Tabela 28. Polimorfismo do alelo -1082 A/G de Interleucina 10 (IL-10) e freqüências de genotipo no câncer de pulmão e fumantes resistentes.

Freqüência	Alelo*		Genotipo		
	G	C	GG	GC	CC
Câncer de pulmão n = 98 (%)	91 (46%)	105 (54%)	16 (16%)	59 (60%)	23 (24%)
Resistente n = 196 (%)	174 (44%)	218 (56%)	40 (20%)	94 (48%)	62 (32%)

* número de cromossomas (2n)

1. Genotipo. GG vs GC/CC para câncer de pulmão vs resistente, Razão de chances (OR) = 0,66, limites de confiança de 95% 0,4-1,2, χ^2 (Yates não corrigido) = 2,12, p = 0,15.

GG genotipo = protetor (tendência)

Tabela 29. Resumo de polimorfismos protetores e de suscetibilidade em pacientes com câncer de pulmão com relação a fumantes resistentes (com função pulmonar normal)

Gene	Polimorfismo	Role
Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3)	NOS3 Asp 298 Glu	TT protetor
Sintase de óxido nítrico 3 (NOS3)	NOS3 -786 T/C	TT suscetibilidade
Dismutase de superóxido 3 (SOD3)	SOD3 Arg 312 Gln	CG/GG protetor
XRCC1	XRCC1 Arg 399 Gln G/A	AA protetor
Interleucina-8 (IL-8)	IL-8 -251 A/T	AA protetor
Anti-quimiotripsina (ACT)	ACT Ala 15 Thr	GG suscetibilidade
Ciclina D (CCND1)	CCND1 A870G	GG protetor AA suscetibilidade
Interleucina 1B (IL-1B)	IL-1B -511 A/G	GG suscetibilidade

FAS (Apo-1/CD95)	FAS A-670G	AA suscetibilidade
XPD	XPD -751 G/T	GG protetor
CYP 1A1	CYP 1A1 Ile 462 Val A/G	GG/AG protetor AA suscetibilidade
Metaloproteinase da matriz 12 (MMP12)	MMP12 Asn 357 Ser A/G	GG/AG protetor
glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1)	OGG1 Ser 326 Cys G/C	GG protetor
N-acetiltransferase 2 (NAT2)	NAT2 Arg 197 Gln A/G	GG suscetibilidade
CYP2E1	CYP2E1 1019 G/C Pst I	CC/CG suscetibilidade
CYP2E1	CYP2E1 C/T Rsa I	TT/TC suscetibilidade
Interleucina -18 (IL-18)	IL-18 105 A/C	AC/CC protetor AA suscetibilidade
Interleucina -18 (IL-18)	IL-18 -133 G/C	CG/GG protetor CC suscetibilidade
S-transferase M de glutationa	GSTM nulo	Nulo suscetibilidade
Interferon gama (IFNYγ)	IFNYγ 874 A/T	AA suscetibilidade
Ciclooxigenase 2 (COX2)	COX2 -765 G/C	CC/CG protetor GG suscetibilidade
Metaloproteinase da matriz 1 (MMP1)	MMP -1607 1G/2G	2G2G suscetibilidade
Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF)	CTGF -447 G/C	GC/CC suscetibilidade
Mucina 5AC (MUC5AC)	MUC5AC -221 C/T	TT protetor
Lectina de ligação à manose 2 (MBL2)	MBL2 +161 G/A	AG/AA suscetibilidade
Nibrina (NBS1)	NBS1 Gln185Glu G/C	CC suscetibilidade

Arginase 1 (Arg1)	Arg1 íntron 1 C/T	TT protetor
REV1	REV1 Phe257Ser C/T	CC protetor
Receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R)	IGF2R Leu252Val C/G	GG protetor
nuclease Apex (Apex ou APE1))	Apex Asp148Glu G/T	GG suscetibilidade
Interleucina 10 (IL-10)	IL-10 -1082 A/G	GG protetor

Tabela 30. Freqüências combinadas da presença ou ausência de genotipos protetores (CYP1A1 GG/AG, OGG1 GG, CCND1 GG, NOS3 298 TT, IL-8 AA, XRCC1 AA) **nos indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Número de polimorfismos protetores			
Grupos	0	1	≥2	Total
Câncer de pulmão	66 (61%)	37 (34%)	6 (6%)	109
Fumantes resistentes	71 (36%)	86 (43%)	42 (21%)	199
% de fumantes com câncer de pulmão	66/137 (48%)	37/123 (30%)	6/42 (14%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	χ2	P valor
0 vs 1 vs 2+, Resistente vs Câncer de pulmão	-	-	22,3	<0,0001
2+ vs 0-1, Resistente vs Câncer de pulmão	4,6	1,8-12,5	11,87	0,0005
0 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	2,8	1,7-4,6	16,7	<0,0001

Tabela 31. Freqüências combinadas da presença ou ausência de geno-

tipos de suscetibilidade (CYP2E1 1019 CC/CG, FAS AA, IL-1B GG, ACT 15 GG) **em indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Número de polimorfismos de suscetibilidade			
Grupos	0	1	≥2	Total
Câncer de pulmão	21 (19%)	52 (48%)	35 (33%)	108
Fumantes resistentes	71 (36%)	85 (43%)	42 (21%)	198
% de fumantes com câncer de pulmão	21/92 (23%)	52/137 (38%)	35/77 (45%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	$\chi 2$	P valor
0 vs 1 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	-	-	10,2	0,006
2+ vs 0-1, Câncer de pulmão vs Resistente	1,8	1,0-3,1	4,1	0,04
0+ vs 1-2+, Resistente vs Câncer de pulmão	2,3	1,3-4,2	8,2	0,004

Tabela 32. Freqüências combinadas da presença ou ausência de genotipos protetores (CYP1A1 GG/AG, OGG1 GG, CCND1 GG, NOS3 298 TT, SOD3 CG/GG, XPD GG, MMP12 GG/AG, XRCC1 AA, n = 8) **em indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Número de polimorfismos protetores n = 8			
Grupos	0	1	≥2	Total
Câncer de pulmão	54 (50%)	50 (46%)	5 (4%)	109
Fumantes resistentes	67 (34%)	83 (42%)	50 (25%)	199
% de fumantes com câncer de pulmão	54/121 (45%)	50/133 (38%)	5/55 (9%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	χ2	P valor
0 vs 1 vs 2+, Resistente vs Câncer de pulmão	-	-	21,5	<0,0001
2+ vs 0-1, Resistente vs Câncer de pulmão	6.9	2,5-20,5	18,7	<0,0001
0 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	2,0	1,2-3,2	6,96	0,008

Tabela 33. Freqüências combinadas da presença ou ausência de genotipos de suscetibilidade (CYP2E1 1019 CC/CG, FAS AA, IL-1B GG, ACT 15 GG, NAT2 GG, IL-18 105 AA, IFNYγ AA, n = 7) **em indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Número de polimorfismos de suscetibilidade n = 7			
Grupos	1	2	≥3	Total
Câncer de pulmão	16 (15%)	35 (32%)	58 (53%)	109
Fumantes resistentes	65 (33%)	66 (33%)	69 (34%)	200
% de fumantes com câncer de pulmão	16/81 (20%)	35/101(35%)	58/127(46%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	χ2	P valor
0 vs 1 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	-	-	14,6	0,0007
3+ vs 1-2, Câncer de pulmão vs Resistente	2,2	1,3-5,6	9,4	0,002
1 vs 2-3+, Resistente vs Câncer de pulmão	2,8	1,5-5,4	10,7	0,001

Tabela 34. Freqüências combinadas da presença ou ausência de genotipos protetores (CYP1A1 GG/AG, OGG1 GG, CCND1 GG, NOS3 298 TT, IL-8 AA, XRCC1 AA, Cox 2 -765 CC/CG) **em indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Number de polimorfismos protetores			
Grupos	0	1	≥2	Total
Câncer de pulmão	45 (40%)	50 (43%)	19 (17%)	114
Fumantes resistentes	47 (23%)	79 (40%)	74 (37%)	200
% de fumantes com câncer de pulmão	45/47 (49%)	50/129 (39%)	19/93 (20%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	χ2	P valor
0 vs 1 vs 2+, Resistente vs Câncer de pulmão	-	-	16,8	0,0002
2+ vs 0-1, Resistente vs Câncer de pulmão	2,94	1,6-5,4	13,44	0,0002
0 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	2,12	1,3-3,6	8,2	0,004

Tabela 35. Freqüências combinadas da presença ou ausência de genotipos de suscetibilidade (CYP2E1 1019 CC/CG, FAS AA, IL-B1 GG, ACT 15 GG, MMP1 2G2G) **nos indivíduos fumantes expostos (indivíduos com câncer de pulmão e fumantes resistentes).**

	Número de polimorfismos de sucetibilidade			
Grupos	0-1	2-3	4-6	Total
Câncer de pulmão	13 (12%)	66 (61%)	30 (28%)	109
Fumantes resistentes	54 (27%)	113 (56%)	33 (17%)	200
% de fumantes com câncer de pulmão	13/67 (19%)	66/179 (37%)	30/63 (48%)	

Comparação	Razão de chance	CI de 95%	χ2	P valor
0 vs 1 vs 2+, Câncer de pulmão vs Resistente	-	-	11,8	0,003
2+ vs 0-1, Câncer de pulmão vs Resistente	1,9	1,0-3,5	4,6	0,03
0+ vs 1-2+, Resistente vs Câncer de pulmão	2,7	1,4-5,6	8,6	0,003

DISCUSSÃO

Os resultados acima mostram que vários polimorfismos estavam associados a um risco aumentado ou diminuído de desenvolver câncer de pulmão. As associações de polimorfismos individuais em si, embora de valor discriminatório, são improváveis de oferecer uma previsão adequada de doença. Contudo, em combinação, esses polimorfismos distinguem indivíduos suscetíveis daqueles que são resistentes (por exemplo, entre os fumantes que desenvolver câncer de pulmão e aqueles com um risco menor com exposição comparável ao fumo). Os polimorfismos representam polimorfismos promotores, que se acredita modificarem a expressão do gene e, conseqüentemente, síntese de proteína, e polimorfismos exônicos conhecidos por alterar a seqüência de aminoácido (e provavelmente expressão e/ou função) em uma série de genes envolvidos em processos conhecidos por fundamentarem remodelamento pulmonar e câncer de pulmão. Os polimorfismos identificados aqui foram encontrados em genes que codificam proteínas centrais a esses processos, os quais incluem inflamação, remodelamento de matriz, estresse oxidativo, reparo de DNA, replicação celular e apoptose.

Na comparação de fumantes com câncer de pulmão e fumantes equivalentes com função pulmonar quase normal (menor risco de câncer de pulmão a despeito do fumo), vários polimorfismos foram identificados como sendo encontrados em freqüência significativamente maior ou menor do que nos grupos comparativos (algumas vezes incluindo o grupo de doadores de sangue). Em virtude do pequeno grupo de pacientes com câncer de pulmão,

polimorfismos que eram as únicas tendências com relação à diferenças (P = 0,06-0,25) foram incluídos nas análises, embora nas análises combinadas apenas aqueles polimorfismos com as diferenças mais significativas fossem utilizados.

- Na análise do polimorfismo Asp 298 Glu (T/G) do gene de sintase de óxido nítrico 3, descobriu-se que o genotipo TT era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 1,8, P = 0,14) consistente com um papel protetor. Essa maior freqüência, comparado com o grupo de doadores de sangue, também sugere que o genotipo TT é super representado no grupo resistente (veja Tabela 1a).
- Na análise do polimorfismo -786 T/C do gene de Sintase de óxido nítrico 3, descobriu-se que o genotipo TT era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,4, P = 0,23) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 1b).
- Na análise do polimorfismo Arg 312 Gln do gene de Dismutase de superóxido 3, descobriu-se que os genotipos CG e GG eram significativamente maiores no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (P = 0,03) consistente com cada um tendo um papel protetor (Tabela 2).
- Na análise do polimorfismo Arg 399 Gln A/G do gene XRCC1, descobriu-se que o genotipo AA era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 2,6, P = 0,09) consistente com um papel protetor (Tabela 3).
- Na análise do polimorfismo -251 A/T do gene de interleucina-8, descobriu-se que o genotipo AA era significativamente maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 4,1, P = 0,002) consistente com um papel protetor (Tabela 4). Descobriu-se também que o alelo A era significativamente maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 1,5, P = 0,02) consistente com um papel protetor (Tabela 4).
- Na análise do polimorfismo Ala 15 Thr do gene de Antiquimiotripsina, descobriu-se que o GG era maior no grupo com câncer de pulmão comparado

com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,7, P = 0,06) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 5). Descobriu-se que o alelo G era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,3, P = 0,1) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 5).

• Na análise do polimorfismo A 870 G do gene de Ciclina D1, descobriu-se que o genotipo GG era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 1,4, P = 0,20) consistente com um papel protetor (veja Tabela 6). Em contraste, descobriu-se que o genotipo AA era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,4, P = 0,2) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 6).

• Na análise do polimorfismo -511 A/G do gene de Interleucina 1B, descobriu-se que o genotipo GG era significativamente maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,6, P = 0,04) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 7).

• Na análise do polimorfismo A -670 G do gene FAS (Apo-1/CD95), descobriu-se que o genotipo AA era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,5, P = 0,15) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 8). Descobriu-se que o alelo A era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,3, P = 0,15) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 8).

• Na análise do polimorfismo 751 T/G do gene XPD, descobriu-se que o genotipo GG era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 1,7, P = 0,18) consistente com um papel protetor (Tabela 9).

• Na análise do polimorfismo Ile 462 Val G/A do gene CYP 450 1A1, descobriu-se que os genotipos AG e GG eram maiores no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 2,2, P = 0,12) consistente com cada um tendo um papel protetor (veja Tabela 10). Em contraste, descobriu-se que o genotipo AA era consistente com um pa-

pel de suscetibilidade (veja Tabela 10).

• Na análise do polimorfismo Asn 357 Ser do gene de Metaloproteinase da matriz 12, descobriu-se que os genotipos GG e AG eram maiores no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 1,7, P = 0,23) consistente com cada um tendo um papel protetor (Tabela 11).

• Na análise do polimorfismo Ser 326 Cys (C/G) do gene OGG1, descobriu-se que o GG genotipo era significativamente maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 4,0, P = 0,05) consistente com um papel protetor (Tabela 12).

• Na análise do polimorfismo Arg 197 Gln G/A do gene de N-Acetiltransferase 2, descobriu-se que o genotipo GG era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,5, P = 0,08) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 13).

• Na análise do polimorfismo 1019 G/C Pst do gene CYP 2E1, descobriu-se que o genotipo CG era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,7, P = 0,23) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 14a).

• Na análise do polimorfismo C/T Rsa 1 do gene de CYP 2E1, descobriu-se que o genotipo TC era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,9, P = 0,13) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 14b).

• Na análise do polimorfismo 105 A/C do gene de Interleucina-18, descobriu-se que o genotipo AA era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,6, P = 0,06) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 15a). Em contraste, os genotipos AC e CC eram, cada um, consistentes com um papel protetor (veja Tabela 15).

• Na análise do polimorfismo -133 C/G do gene de Interleucina-18, descobriu-se que o genotipo CC era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,5, P = 0,09) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 15b). Em contraste, os ge-

notipos CG e GG eram, cada um, consistente com um papel protetor (veja Tabela 15b).

• Na análise do polimorfismo nulo do gene de S transferase de glutationa, descobriu-se que o genotipo nulo era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de doadores de sangue (OR = 1,92, P = 0,01) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 16).

• Na análise do polimorfismo 874 A/T do gene de Interferon gama, descobriu-se que o genotipo AA era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de doadores de sangue (OR = 1,9, P = 0,02) e comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,4, P = 0,22) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 17).

• Na análise do polimorfismo -765 C/G do promotor do gene de ciclooxigenase 2, descobriu-se que o alelo C e os genotipos CC e CG eram significativamente maiores no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,59, P = 0,03 e OR = 0,53, P = 0,03, respectivamente), consistente com um papel protetor. Essa maior freqüência, comparado com o grupo de doadores de sangue, também sugere que o alelo C (genotipo CC) é super-representado no grupo resistente (veja Tabela 18). Em contraste, descobriu-se que o alelo G e o genotipo GG eram maiores no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,7, P = 0,03 e OR = 1,88, P = 0,03, respectivamente), consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 18).

• Na análise do polimorfismo -1607 1G/2G do gene de metaloproteinase 1 da matriz, descobriu-se que o genotipo 2G2G era significativamente maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de doadores de sangue (OR = 2,58, P = 0,006), consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 19). Descobriu-se que o alelo 2G era significativamente maior do que no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de doadores de sangue (OR = 2,1, P = 0,0004), consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 19).

• Na análise do polimorfismo -447 G/C do gene de fator de crescimento de tecido conectivo, descobriu-se que os genotipos CC e GC eram maiores no

grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo resistente ao fumo (OR = 1,6, P = 0,19) consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 20).

• Na análise do polimorfismo -221 C/T no gene de Mucina 5AC, descobriu-se que o genotipo TT era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,47, P = 0,14) consistente com um papel protetor (veja Tabela 21).

• Na análise do polimorfismo 161 G/A do gene de lectina de ligação à manose (MBL2), descobriu-se que os genotipos AA e AG eram maiores no grupo com câncer de pulmão comparado com grupo de fumantes resistentes (OR = 1,4, P = 0,20) consistente com cada um tendo um papel de suscetibilidade (veja Tabela 22).

• Na análise do polimorfismo Gln 185 Glu G/C do gene de Nibrina, descobriu-se que o genotipo CC era significativamente maior no grupo com câncer de pulmão comparado com grupo de fumantes resistentes (OR = 2,3, P = 0,05), consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 23).

• Na análise do polimorfismo íntron 1 C/T do gene de Arginase 1, descobriu-se que o Genotipo TT era significativamente maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,46, P = 0,02) consistente com um papel protetor (veja Tabela 24). Descobriu-se que o alelo T era significativamente maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,69, P = 0,05) consistente com um papel protetor (veja Tabela 24).

• Na análise do polimorfismo Phe 257 Ser C/T do gene REV1, descobriu-se que o genotipo CC era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,73, P = 0,20), consistente com um papel protetor (veja Tabela 25).

• Na análise do polimorfismo Leu 252 Val C/G do gene do receptor de fator II de crescimento semelhante à insulina, descobriu-se que o genotipo GG era maior no grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,30, P = 0,22) consistente com um papel protetor (veja Tabela 26).

• Na análise do polimorfismo Asp 148 Glu T/G do gene de nuclease Apex, descobriu-se que o genotipo GG era maior no grupo com câncer de pulmão comparado com o grupo de fumantes resistentes (OR = 1,4, P = 0,25), consistente com um papel de suscetibilidade (veja Tabela 27).

• Na análise do polimorfismo -108 2A/G do gene de Interleucina-10, descobriu-se que o genotipo GG era maior do grupo de fumantes resistentes comparado com o grupo com câncer de pulmão (OR = 0,66, P = 0,15), consistente com um papel protetor (veja Tabela 28).

É aceito que a disposição ao câncer de pulmão é o resultado dos efeitos combinados da composição genética indivíduo e outros fatores, incluindo sua exposição ao longo da vida a vários aero-poluentes, incluindo fumo de tabaco. Similarmente, é aceito que o câncer de pulmão abrange várias doenças pulmonares obstrutivas e caracterizadas por taxas de fluxo expiratório prejudicadas (por exemplo, FEV1). Os dados aqui sugerem que vários genes podem contribuir para o desenvolvimento de câncer de pulmão. Uma série de mutações genéticas que trabalham em combinação para promover ou proteger os pulmões de dano estão, provavelmente, envolvidas em resistência ou suscetibilidade elevada ao câncer de pulmão.

A partir das análises dos polimorfismos individuais, 17 genotipos protetores foram identificados e analisados com relação às suas freqüências no grupo de fumantes consistindo em fumantes de baixo risco, isto é, fumantes resistentes (função pulmonar próximo do normal) e aqueles com câncer de pulmão. Quando as freqüências de fumantes resistentes e fumantes com câncer de pulmão foram comparadas de acordo com a presença de genotipos protetores 0, 1 e 2+ selecionados de um subconjunto de seis dos genotipos protetores (CYP1A1 GG/AG, OGG1 GG, CCND1 GG, NOS3 298 TT, IL-8 AA, XRCC1 AA), diferenças significativas foram encontradas (global $\gamma 2$ = 22,3, P<0,0001) (veja Tabela 30). Essa análise sugere que fumantes com genotipos protetores 2+ tinham 4-5 vezes mais probabilidade de serem resistentes (OR = 4,6, P = 0,0005), enquanto que aqueles sem genotipos protetores eram aproximadamente três vezes mais prováveis de ter câncer de pulmão (OR = 2,8, P<0,0001). Examinado de outra forma, a chance de ter

câncer de pulmão diminuiu de 48%, para 30%, para 14%, em fumantes com genotipos protetores 0, 1, ou 2+, respectivamente. Análises de grupos maiores de polimorfismos protetores resultaram em achados similares (veja Tabelas 32 e 34).

A partir de análises dos polimorfismos individuais, 19 genotipos de suscetibilidade possíveis foram identificados e analisados com relação às suas freqüências no grupo de fumantes consistindo em fumantes resistentes e aqueles com câncer de pulmão. Quando as freqüências de fumantes resistentes e fumantes com câncer de pulmão foram comparadas de acordo com a presença de genotipos de suscetibilidade 0, 1 e 2+ selecionados de um subconjunto de seis dos genotipos de suscetibilidade (genotipos CYP2E1 1019 CC/CG, FAS AA, IL-1B GG, ACT 15 GG), diferenças significativas foram encontradas (global $\gamma 2 = 10,2$, $P = 0,006$) (veja Tabela 31). Essa análise sugere que fumantes com genotipos de suscetibilidade 2+ tinham aproximadamente duas vezes mais probabilidade de ter câncer de pulmão (OR = 1,8, $P = 0,04$), enquanto que aqueles sem genotipos de suscetibilidade eram duas vezes mais provável de serem resistentes (OR = 2,3, $P = 0,004$). Examinado de outra forma, as chances de ter câncer de pulmão aumentavam de 23%, para 38%, para 45% em fumantes com genotipos de suscetibilidade 0, 1 ou 2+, respectivamente. Análises de grupos maiores de polimorfismos de suscetibilidade resultaram em achados similares (veja Tabelas 33 e 35). Esses achados indicam que os métodos da presente invenção podem ser prognósticos de câncer de pulmão em um indivíduo bem antes que os sintomas se apresentem.

Esses achados, portanto, também apresentam oportunidades para intervenções terapêuticas e/ou regimes de tratamento, conforme discutido aqui. Resumidamente, tais intervenções ou regimes podem incluir o fornecimento, ao indivíduo, de motivação para implementar uma mudança no estilo de vida ou métodos terapêuticos dirigidos à normalização de expressão anormal de gene ou função do produto genético. Por exemplo, o alelo -765 G no promotor do gene que codifica COX2 está associado à expressão aumentada do gene com relação àquela observada com o alelo C. Conforme

mostrado aqui, o alelo C é protetor com relação ao risco de desenvolver câncer de pulmão, pelo que uma terapia adequada em indivíduos conhecidos por possuir o alelo -765 G pode ser a administração de um agente capaz de reduzir a expressão do gene que codifica COX2. Uma terapia alternativa adequada pode ser a administração, a tal indivíduo, de um inibidor de COX2 e/ou abordagens terapêuticas adicionais, tal como terapia genética ou RNAi. Em outro exemplo, conforme mostrado aqui, o alelo -133 C no promotor do gene que codifica IL-18 está associado à suscetibilidade a câncer de pulmão. O alelo -133 G no promotor do gene que codifica IL-18 está associado a níveis aumentados de IL-18, pelo que uma terapia adequada em indivíduos conhecidos por possuir o alelo -133 C pode ser a administração de um agente capaz de aumentar a expressão do gene que codifica IL-18. Uma terapia alternativa pode ser administrar IL-18 ou um análogo funcional do mesmo a um indivíduo ou, de outro modo, aumentar os níveis de IL-18 no indivíduo. Em um outro exemplo, conforme mostrado aqui, o genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1 está associado à suscetibilidade a câncer de pulmão. Uma série de inibidores de metaloproteinases da matriz são conhecidos, por exemplo, aqueles discutidos na US 6.600.057 (incorporada aqui em sua totalidade), tal como inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), incluindo TIMP1, TIMP2, TIMP3, e TIMP4, os quais formam complexos inativos com MMPs, reguladores de proteinase mais gerais os quais impedem a ação da MMP, reguladores de expressão do gene de MMP, incluindo MMPs ligadas à membrana (MT-MMP) que ativam a forma de pró-enzima excretada de MMPs e compostos, tais como ácido 4,5-dihidroxiantraquinona-2-carboxílico (AQCA) e derivados do mesmo. Uma terapia adequada em indivíduos conhecidos por possuir o genotipo -1607 2G/2G pode ser a administração de um agente capaz de reduzir a expressão do gene que codifica MMP1 ou administração de um agente capaz de reduzir a atividade de MMP1, por exemplo, através de administração de um agente capaz de aumentar a expressão de ou a atividade de um ou mais TIMPs ou administração de um agente capaz de reduzir a expressão de ou atividade de uma ou mais MMPs ligadas à membrana ou outros ativadores

de MMP1. Por exemplo, uma terapia adequada pode ser a administração, a tal indivíduo, de um inibidor de MMP1, tal como ácido 4,5-dihidróxiantraquinona-2-carboxílico (AQCA), antraquinil-mercaptoetilamina, hidroxamato de antraquinil-alanina ou derivados dos mesmos. Em outro exemplo, um determinado genotipo de suscetibilidade está associado à expressão aumentada de um gene com relação àquela observada ao genotipo protetor. Uma terapia adequada em indivíduos conhecidos por possuir o genotipo de suscetibilidade é a administração de um agente capaz de reduzir a expressão do gene, por exemplo, usando métodos de RNAi ou anti-sentido. Uma terapia alternativa adequada pode ser a administração, a tal indivíduo, de um inibidor do produto genético. Em ainda outro exemplo, um genotipo de suscetibilidade presente no promotor de um gene esta associado à ligação aumentada de uma proteína repressora e transcrição diminuída do gene. Uma terapia adequada é a administração de um agente capaz de diminuir o nível de repressor e/ou impedir a ligação do repressor, desse modo, aliviando seu efeito sub-regulatório sobre a transcrição. Uma terapia alternativa pode incluir terapia genética, por exemplo, a introdução de pelo menos uma cópia adicional do gene tendo uma afinidade reduzida por ligação a repressor (por exemplo, uma cópia de gene tendo um genotipo protetor).

Métodos e agentes adequados para uso em tal terapia são bem-conhecidos na técnica e são discutidos aqui.

A identificação de polimorfismos de suscetibilidade e protetores, conforme descrito aqui, também proporciona a oportunidade de selecionar compostos candidatos para avaliar sua eficácia em métodos de tratamento profilático e/ou terapêutico. Tais métodos de seleção envolvem identificação de qual, de uma série de compostos candidatos, tem a capacidade de reverter ou contra-atuar um efeito genotípico ou fenotípico de um polimorfismo de suscetibilidade ou a capacidade de imitar ou replicar um efeito genotípico ou fenotípico de um polimorfismo protetor.

Ainda, outros métodos para avaliação de provável responsividade de um indivíduo a uma abordagem profilática ou terapêutica disponível são proporcionados. Tais métodos têm aplicação particular onde a aborda-

gem de tratamento disponível envolve restauração da concentração fisiologicamente ativa de um produto de um gene expresso de um excesso ou déficit como estando dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo. Em tais casos, o método compreende a detecção da presença ou ausência de um polimorfismo de suscetibilidade o qual, quando presente, super-regula ou sub-regula a expressão do gene, de modo que um estado de tal excesso ou déficit é o resultado, com aqueles indivíduos nos quais o polimorfismo está presente sendo prováveis respondedores ao tratamento.

EXEMPLO 2

A Tabela 36 abaixo apresente exemplos representativos de polimorfismos em desequilíbrio de ligação com os polimorfismos especificados aqui. Exemplos de tais polimorfismos podem ser localizados usando bancos de dados públicos, tal como aquele disponível em www.hapmap.org. Polimorfismos especificados são indicados entre parênteses. Os números rs proporcionados são identificadores únicos a cada polimorfismo.

Tabela 36. Polimorfismos reportados como estando em DL com polimorfismos especificados aqui.

NOS3

rs2373962	rs3918225	rs3918169	rs2373961	rs3918160
rs3918170	rs6951150	rs1800779	rs3793342	rs13238512
rs2243311	rs3793341	rs10247107	rs3918161	rs1549758
rs10276930	rs10952298	rs1007311	rs10277237	rs2070744 **(-786 T/C)**
rs9282803	rs12703107	rs9282804	rs6946340	rs3918226
rs1799983 **(Asp 298 Glu)**	rs6946091	rs3918162	rs6946415	rs3918163
rs10952296	rs3918164	rs13309715	rs3918165	rs10952297
rs1800781	rs7784943	rs13310854	rs11771443	rs13310763
rs2243310	rs2853797	rs1800783	rs13311166	rs3918155
rs13310774	rs3918156	rs2853798	rs2566519	rs11974098
rs3918157	rs3918166	rs3918158	rs3730001	rs3918159
rs3918167	rs2566516	rs3918168		

XRCC1

rs1799782	rs2307175	rs2307173	rs2307192	rs2307176
rs25492	rs6413430	rs3213363	rs25493	rs909008
rs3213365	rs25485	rs1799780	rs25488	rs3213367
rs3213360	rs25489	rs25486	rs3213361	rs2307188
rs2271980	rs915927	rs3213366	rs25487 **(Arg 399 Gln)**	rs3192714
rs25490	rs10407677	rs25491		

IL8

rs4694635	rs2227527	rs2227543	rs11730560	rs11730284
rs1957663	rs7682639	rs12420	rs13106097	rs11944402
rs4694636	rs2227529	rs16849942	rs4694178	rs7658422
rs16849925	rs2227530	rs3181685	rs4694637	rs11940656
rs16849928	rs2227531	rs11733933	rs11729759	rs1951700
rs11730667	rs2227532	rs2227544	rs10938093	rs1951699
rs16849934	rs2227534	rs2227545	rs13109377	rs1957662
rs4073 **(-251 A/T)**	rs2227550	rs1951236	rs16849938	rs2227546
rs1951237	rs6831816	rs2227535	rs1126647	rs6446955
rs2227517	rs2227536	rs11545234	rs6446956	rs2227518
rs2227537	rs2227548	rs6446957	rs2227519	rs2227538
rs10938092	rs16849945	rs2227520	rs1803205	rs13112910
rs1951239	rs2227521	rs2227539	rs13142454	rs1951240
rs2227522	rs3756069	rs11937527	rs1957661	rs2227523
rs2227307	rs12647924	rs7674884	rs2227524	rs2227549
rs13152254	rs16849958	rs2227525	rs2227540	rs13138765
rs17202249	rs2227526	rs2227306	rs13139170	rs1951242

Anti-quimiotripsina, ACT

rs4900239	rs6575448	rs9323909	rs4905225	rs4362321
rs2896288	rs10131646	rs1884082	rs11160196	rs10131818
rs7492561	rs10131754	rs10133663	rs11845108	rs12886656
rs1004761	rs12886657	rs9671421	rs7493944	rs7151480
rs7493955	rs9671431	rs4934 **(ACT Ala 15 Thr)**	rs12433006	rs9671948
rs1800463	rs10135321	rs17826465	rs10150184	rs11538071
rs10150491	rs11538070			

CCND1

rs3862792	rs11557712	rs11604847	rs12049899	rs603965 **(A 870 G)**
rs678653	rs1051357	rs12288719	rs3212893	rs1803191
rs12283700	rs3918298	rs2510607	rs1803190	rs948886
rs3918299	rs3212894	rs3212910	rs948887	rs3918301
rs3212895	rs3212911	rs3212880	rs3212896	rs3212912
rs3212881	rs3212897	rs3212913	rs3212882	rs3212898
rs3212915	rs3212883	rs11557584	rs3212916	rs3212884
rs2062445	rs3212917	rs3781611	rs3212899	rs3212918
rs649392	rs3212900	rs3212919	rs3212885	rs3212901
rs12805391	rs3212886	rs3212902	rs3212920	rs3212887
rs3212903	rs3212921	rs3918302	rs3212904	rs3212922
rs7944853	rs1051062	rs11603541	rs3212888	rs3212905
rs7116781	rs3212889	rs3212906	rs7121246	rs3212890
rs3212907	rs7124951	rs3212891	rs3212908	rs12281701
rs2510467	rs3212909	rs12288567	rs3212892	rs3802782
rs1192925	rs7177	rs7178	rs1192926	

Interleucina 1B, IL1B

rs10169916	rs6743326	rs13009179	rs6743322	rs4849127
rs6761220	rs4849126	rs6761218	rs7558108	rs5021469
rs13032029	rs6710598	rs13013349	rs1143623	rs12623093
rs1143624	rs3087255	rs2708920	rs3087256	rs1143625
rs6721954	rs2853545	rs12621220	rs2708921	rs7596849
rs1143626	rs4848306	rs3087258	rs3087257	rs16944 **(C -511 T)**
rs7556811	rs7556903	rs3917346	rs6743438	rs4986962
rs6743427	rs1143627	rs6761336	rs6761335	rs6743338
rs6761245	rs6761237	rs6743330		

FAS, TNFRSF6

rs3758483	rs6586166	rs9658718	rs3218618	rs2234767
rs6586167	rs1926193	rs12720435	rs9658674	rs9658691
rs1926192	rs7910435	rs9658675	rs9658692	rs1926191
rs17114661	rs2234768	rs9658693	rs4244983	rs3218614
rs1800682 **(A -670 G)**	rs9658694	rs9658719	rs9658754	rs9658695
rs9658721	rs12720436	rs9658676	rs4345878	rs9658722
rs7911226	rs5030765	rs9658696	rs9658723	rs1926190
rs7474952	rs9658697	rs11202924	rs9658755	rs9658677
rs9658698	rs9658724	rs9658756	rs12251390	rs9658699
rs9658725	rs9658757	rs2274355	rs9658700	rs9658726
rs3781202	rs5030766	rs9658702	rs2296604	rs9658759
rs12775501	rs7094676	rs9658727	rs9658761	rs7079111
rs9658703	rs9658728	rs982764	rs3740286	rs9658704
rs9658729	rs9658763	rs4064	rs9658705	rs7069750
rs3218620	rs1324551	rs9658706	rs9658730	rs2296600
rs10509561	rs9658707	rs9658731	rs6586163	rs1571011
rs3218619	rs6586164	rs9658708	rs9333296	rs3824730
rs1571012	rs3218621	rs3781204	rs1571013	rs3218613

rs12571917	rs9658710	rs9658732	rs3824729	rs9658711
rs2296603	rs10887877	rs7911752	rs9658733	rs11596616
rs11591675	rs9658734	rs7076197	rs11591676	rs9658735
rs12359362	rs12766185	rs9658736	rs7097467	rs11591677
rs9658738	rs7097572	rs9658712	rs9658739	rs9658679
rs9658713	rs9658740	rs9658680	rs2147421	rs9658741
rs1926196	rs2147420	rs7896789	rs1926195	rs9658714
rs9658742	rs9658681	rs1159120	rs9658744	rs9325603
rs4406737	rs9658745	rs2031610	rs2148287	rs9658748
rs7897395	rs9658715	rs9658749	rs7909414	rs9658716
rs7901656	rs9658682	rs2147419	rs9658750	rs7069061
rs2148286	rs9658751	rs7072828	rs2147418	rs2031613
rs6586165	rs9658717	rs2031612	rs9658683	rs4406738
rs9658753	rs9658684	rs7916814	rs2296602	rs9658685
rs2182408	rs2031611	rs7913007	rs7920305	rs3218612
rs9658687	rs1926194	rs2296601		

XPD, ERCC2

rs1799793	rs238409	rs3916858	rs3916876	rs7257638
rs3916838	rs106433	rs238417	rs3916816	rs50871
rs3916860	rs3916878	rs3916817	rs50872	rs3916861
rs3916879	rs3916818	rs3916839	rs3916862	rs1799787
rs3916819	rs3916840	rs3916863	rs1799788	rs3916820
rs3916841	rs238412	rs1799789	rs238404	rs3916842
rs3916864	rs16979773	rs3916821	rs3916843	rs11668936
rs1052555	rs3916822	rs3916844	rs3916866	rs3916881
rs238403	rs7251321	rs2070831	rs3916882	rs171140
rs3916845	rs3916868	rs3916883	rs3895625	rs3916846
rs238413	rs238418	rs3916824	rs3916847	rs238414
rs3916885	rs3916825	rs3916848	rs3916870	rs3916886
rs3916826	rs238410	rs3916871	rs1799790	rs3916827

rs238411	rs3916872	rs13181 **(751 G/T)**	rs3916830	rs3916849
rs238415	rs3916831	rs3916850	rs3916873	rs3916832
rs3916851	rs3932979	rs3916833	rs3916853	rs238416
rs3916834	rs3916854	rs3916874	rs3916835	rs3916855
rs11667568	rs3916836	rs3916856	rs3916875	rs3916837
rs3916857	rs11666730			

CYP1A1

rs11631784	rs4646418	rs2515900	rs7496395	rs2856844
rs4646903	rs7496533	rs2606345	rs2472309	rs4886605
rs8031941	rs2472308	rs12441817	rs4646420	rs12915975
rs2470891	rs4646421	rs6495121	rs2470892	rs4986885
rs1456432	rs7182554	rs2606344	rs2198843	rs936225
rs4646422	rs11072499	rs7180012	rs2229150	rs8039800
rs4986879	rs7179952	rs4987133	rs7181062	rs2856833
rs7179590	rs1799814	rs7180066	rs1048943 **(Ile 462 Val)**	rs7495708
rs2470893	rs2278970	rs3809585	rs2606346	rs2445619
rs4986880	rs2472296	rs4986881	rs4646417	rs4986882
rs2856831	rs1800031	rs2856832	rs4986883	rs3826042
rs4986884	rs3826041	rs2472307		

MMP12

rs652438 **(Asn 357 Ser)**	rs641519	rs585007	rs640735	rs672745
rs651159	rs644008	rs672743	rs644552	rs1291647
rs12794039	rs476185	rs1291646	rs12796315	rs476391
rs1295870	rs505770	rs1291645	rs1042509	rs597518
rs626729	rs626407	rs686375	rs626393	rs12808148
rs1291643	rs484171	rs1296235	rs660727	rs1291642
rs7102181	rs1296234	rs674546	rs1794204	rs7128711

rs580266	rs660599	rs615932	rs511081	rs737693
rs654600	rs686439	rs645763	rs518509	rs561849
rs586701	rs641957	rs11821430	rs1296237	rs1299505
rs641920	rs673217	rs644885	rs673163	

OGG1

rs159154	rs11548133	rs3219007	rs2471902	rs17291491
rs3219001	rs3219008	rs2308329	rs12498111	rs17050550
rs3219009	rs2072668	rs454071	rs1801127	rs159150
rs3219012	rs11928210	rs2472031	rs1805373	rs2471903
rs17050542	rs3219002	rs2472038	rs2472042	rs17775374
rs2471894	rs3219010	rs3219013	rs17050543	rs2472032
rs2472039	rs1801128	rs17050545	rs4986999	rs2472040
rs3219014	rs1042294	rs2472033	rs2472041	rs9824261
rs2269112	rs2472034	rs4686370	rs1052133 **(Ser 326 Cys)**	rs17050547
rs3219003	rs2471899	rs11632	rs2472035	rs9818365
rs3895085	rs2619496	rs2075747	rs159153	rs415153
rs1091453	rs3218993	rs3219004	rs2471900	rs3218994
rs2471895	rs809256	rs3218995	rs2471896	rs812536
rs125701	rs2472036	rs2471901	rs3218996	rs2471897
rs786514	rs3218997	rs3219005	rs809784	rs3218999
rs159151	rs3219011	rs1801129	rs6787046	rs786513
rs1801126	rs2472037	rs786512	rs11548134	rs3219006
rs810862				

NAT2

rs11780272	rs1495744	rs2101857	rs7832071	rs13363820
rs1805158	rs6984200	rs1801279	rs13277605	rs1041983
rs9987109	rs1801280	rs7820330	rs4986996	rs7460995
rs12720065	rs2087852	rs4986997	rs2101684	rs1799929

rs7011792	rs1799930 **(Arg 197 Gln)**	rs1390358	rs923796	rs1208
rs4546703	rs1799931	rs4634684	rs2552	rs2410556
rs4646247	rs11996129	rs971473	rs4621844	rs721398
rs11785247	rs1115783	rs1115784	rs1961456	rs1112005
rs11782802	rs973874			

CYP2E1

rs7091961	rs12776213	rs1329148	rs10857736	rs12262150
rs6537611	rs10857732	rs10857737	rs9418989	rs6537612
rs10857733	rs12776473	rs10776686	rs10466129	rs11101801
rs10466130	rs4838767	rs11101810	rs9419081	rs9418990
rs9419082	rs10857738	rs11101803	rs11101811	rs10776687
rs3813865	rs4838688	rs3813866	rs11101805	rs11575869
rs2031918	rs8192766	rs2031919	rs11575870	rs11101806
rs6413423	rs4838689	rs3813867 **(1019 G/C Pst1)**	rs10857734	rs4838768
rs6413422	rs11101807	rs2031920 **(Rsa1 C/T)**	rs11101808	rs11101809
rs10857735				

IL18

rs187238	rs5744238	rs5744255	rs5744228	rs5744239
rs5744256	rs360718	rs7932965	rs5744257	rs360717
rs11214103	rs360720	rs5744229	rs5744241	rs5744258
rs100000353	rs5744242	rs5744259	rs5744231	rs5744243
rs5744260	rs5744232	rs5744244	rs5744261	rs7106524
rs360722	rs549908 **(105 A/C)**	rs189667	rs5023207	rs12290658
rs5744246	rs12271175	rs5744247	rs11606049	rs360721 **(-133 C/G)**
rs360716	rs360715	rs4988359	rs360714	rs12721559

rs2043055	rs5744248	rs5744233	rs5744249	rs795467
rs5744250	rs12270240	rs5744251	rs100000354	rs100000356
rs4937113	rs1834481	rs100000355	rs17215057	rs360723
rs5744253	rs5744237	rs5744254		

GSTM1

(genotipo nulo)	Não em DL

MMP1

rs529381	rs685265	rs1144396	rs7107224	rs504875
rs1155764	rs526215	rs534191	rs12280880	rs509332
rs542603	rs12283759	rs574939	rs2105581	rs573764
rs470206	rs7102189	rs533621	rs575727	rs1799750 **(-1607 G/GG)**
rs552306	rs634607	rs470211	rs12286876	rs470146
rs12285331	rs2075847	rs519806	rs473509	rs12283571
rs498186	rs2839969	rs2000609	rs7125865	rs570662
rs11225427	rs484915	rs470307	rs2408490	rs12279710

COX2

rs7527769	rs689465	rs4648270	rs7550380	rs12027712
rs12759220	rs2206594	rs689466	rs20430	rs6687495
rs2745558	rs4648271	rs6681231	rs3918304	rs11567825
rs13376484	rs20415	rs4648273	rs12064238	rs20416
rs16825748	rs10911911	rs4648254	rs4648274	rs12743673
rs11567815	rs16825745	rs10911910	rs20417 **(-765G>C)**	rs20432
rs12743516	rs20433	rs10911909	rs4648256	rs3218622
rs1119066	rs20419	rs2066826	rs1119065	rs2734779
rs5278	rs1119064	rs20420	rs4648276	rs10798053
rs20422	rs20434	rs12409744	rs20423	rs3218623
rs10911908	rs5270	rs3218624	rs10911907	rs20424

rs5279	rs7416022	rs5271	rs4648278	rs2745561
rs4648257	rs13306034	rs10911906	rs11567819	rs2853803
rs2734776	rs3134591	rs4648279	rs2734777	rs3134592
rs4648281	rs12084433	rs20426	rs4648282	rs2734778
rs4648258	rs11567826	rs2745560	rs11567820	rs4648283
rs2223627	rs2745557	rs4648284	rs2383517	rs11567821
rs4648285	rs4295848	rs4648259	rs11567827	rs4428839
rs4648260	rs4648286	rs4609389	rs4648261	rs4648287
rs4428838	rs4648262	rs5272	rs12131210	rs11567822
rs4648288	rs2179555	rs11567823	rs5273	rs2143417
rs2066824	rs5274	rs2143416	rs20427	rs3218625
rs11583191	rs5277	rs4648289	rs2383516	rs2066823
rs4648290	rs2383515	rs4648263	rs1051896	rs10911905
rs4987012	rs5275	rs10911904	rs20428	rs6684912
rs20429	rs2745559	rs4648264	rs12042763	rs4648265
rs4648250	rs4648266	rs4648251	rs4648267	rs2223626
rs11567824	rs689462	rs4648268	rs4648253	rs4648269

IFNYG

rs2069707	rs2069720	rs3814242	rs1042274	rs2069709
rs2069721	rs2069710	rs2069734	rs2069711	rs2069722
rs2069712	rs2234687	rs2430561 **(874 A/T)**	rs7957366	rs2069723
rs2069713	rs2069724	rs1861494	rs2069725	rs2234685
rs4394909	rs1861493	rs2069726	rs2069714	rs2069727
rs2069715	rs2069716	rs2069717	rs2069718	rs3087272
rs2069719	rs9282708			

CTGF

(-447 G/C), sem número rs	Região de recombinação

MUC5AC

(-221 C/T), sem número rs	Sem dados de DL

MBL2

rs7899547	rs12264958	rs12255312	rs10824797	rs11003126
rs11003122	rs11003131	rs1031101	rs1982267	rs930506
rs10824795	rs1982266	rs930505	rs10824794	rs4935047
rs11003130	rs920725	rs4935046	rs2384044	rs7916582
rs10824793	rs2384045	rs920724	rs1838066	rs5027257
rs16933335	rs1838065	rs2384046	rs11003125	rs930509
rs12263867	rs7100749	rs930508	rs11003129	rs11003124
rs930507	rs12221393	rs7084554	rs2165811	rs7096206
rs12782244	rs11003123	rs11003128	rs11575988	rs17664818
rs11575989	rs7475766	rs7095891	rs10824796	rs4647963
rs16933417	rs8179079	rs2165810	rs5030737	rs11003127
rs1800450 **(161 G/A)**	rs3925313	rs7094151	rs1800451	rs7071882
rs12246310				

SOD3

rs1799895 **(Arg 231 Gly)**	Região de baixo DL

APEX1

rs3136820 **(Asp 148 Glu)**	Região de recombinação

NBS1

rs1805800	rs1805793	rs1805824	rs1805788	rs3026273
rs13312874	rs13312891	rs1805787	rs1805847	rs7463645
rs1805823	rs1805816	rs13312847	rs13312877	rs6990969
rs3026269	rs1805846	rs3026272	rs13312893	rs1805815
rs1805845	rs1805833	rs13312894	rs13312922	rs1805844
rs1805832	rs741777	rs1805786	rs13312849	rs7818138
rs13312895	rs709816	rs1805799	rs9792335	rs6985934

rs13312850	rs2339025	rs867185	rs13312851	rs3358
rs4596696	rs13312852	rs13277858	rs1805822	rs13312853
rs1805831	rs1805790	rs2073635	rs1805830	rs1569162
rs1063045	rs2293775	rs1805821	rs13312854	rs13259550
rs1805820	rs13312855	rs741778	rs1235369	rs1805798
rs1805829	rs3026270	rs1805797	rs1805828	rs1805789
rs2308961	rs769416	rs9694776	rs13312858	rs2272581
rs2293774	rs13312859	rs13312879	rs7008218	rs1805796
rs3026271	rs11998021	rs1805843	rs1805827	rs13312896
rs769417	rs13312880	rs13312897	rs769414	rs769418
rs12550313	rs1805842	rs769420	rs13312898	rs1805841
rs13312881	rs13312900	rs13312860	rs2308960	rs13312901
rs1805840	rs1805826	rs16786	rs13312861	rs10092465
rs13312902	rs1805839	rs13312883	rs1805819	rs1805838
rs1805792	rs2234744	rs13312862	rs13312884	rs13312903
rs13312863	rs13312885	rs1805818	rs1805837	rs13312886
rs7818042	rs13312864	rs13312887	rs13312904	rs13312865
rs1805791	rs7818989	rs13312866	rs1805825	rs13312905
rs13312867	rs13278453	rs13312906	rs11995115	rs13275276
rs13312907	rs1805836	rs10282890	rs9650096	rs1805795
rs16902052	rs9649958	rs7832009	rs7006322	rs7010210
rs1805835	rs7006318	rs13312913	rs13312871	rs6987873
rs2516635	rs13312872	rs9650098	rs13312916	rs1805794 **(Gln 185 Glu)**
rs13312888	rs11784904	rs13312889	rs13312921	rs1805834
rs13312890	rs1805817			

ARG1

rs2781659	rs2781660	rs2781661	rs2781662	rs2781663
rs2608898	rs2781664	rs3756780	rs2781665	rs2608897
rs2781666	rs17788484	rs9493029	rs2781667	

			(Íntron1 C/T)	

REV1, REV1L

rs6714244	rs10172068	rs1000409	rs7597141	rs3208832
rs1839666	rs10180138	rs5013068	rs6714650	rs1801874
rs7560795	rs12465846	rs1451245	rs17022663	rs14534
rs10179697	rs9308821	rs3792141	rs17763586	rs2305353
rs4143760	rs10183488	rs3792142	rs13402784	rs2305352
rs10173883	rs7580448	rs3792143	rs7574943	rs12474305
rs10176205	rs7426356	rs3792144	rs4851205	rs13423815
rs12470050	rs13395100	rs2309585	rs7571793	rs17022639
rs7571186	rs11889026	rs7573502	rs3792152	rs7579403
rs13384316	rs13395095	rs10179435	rs10177775	rs12053237
rs6542882	rs11889025	rs7423755	rs3087394	rs12233126
rs13430962	rs2053917	rs1451244	rs3087398	rs11123786
rs13427780	rs13392042	rs3087386 **(Phe 257 Ser)**	rs2242037	rs11123785
rs6737560	rs13429806	rs11675410	rs3197957	rs1011633
rs10173466	rs3087391	rs17022653	rs2242036	rs6707685
rs10170425	rs3087399	rs12104881	rs17022634	rs13420087
rs10172752	rs10175852	rs12104509	rs3205290	rs6713792
rs10169151	rs12105223	rs12105686	rs7593274	rs7564587
rs4851206	rs7582085	rs12104601	rs13389623	rs11676988
rs7567674	rs6542880	rs13420293	rs11695517	rs7594838
rs11695422	rs3087383	rs2309604	rs13432046	rs7582133
rs3087385	rs6542881	rs10210346	rs13419448	rs3749087
rs896249	rs10210257	rs3087402	rs7560996	rs737094
rs13385501	rs3792146	rs7601730	rs11893335	rs2122748
rs3792147	rs13428419	rs13405400	rs13427424	rs3792148
rs3828316	rs13405256	rs10188633	rs13409359	rs717454
rs9308823	rs1451246	rs10496337	rs13394927	rs1973011

rs1839667	rs6542879	rs3087396	rs13398476	rs9973846
rs3792149	rs1053544	rs9308822	rs11899745	rs4341989
rs2290261	rs10191001	rs10865031	rs12479064	rs2290260
rs6746320	rs7572779	rs13429185	rs3087401	rs6728175
rs7563462	rs6717515	rs6711073	rs13415713	rs7563455
rs6727483	rs12465153	rs11902376	rs12986447	rs11887109
rs3087389	rs17022732	rs2053916	rs12619546	rs3087388
rs6748200	rs3792135	rs10182492	rs3209289	rs3792134
rs3792136	rs3792150	rs1046340	rs3087382	rs3792137
rs3792151	rs3087393	rs3087384	rs13416265	rs6723062
rs2305354	rs896248	rs3792138	rs1451243	rs3087392
rs959929	rs13387148	rs13426758	rs3087400	rs769105
rs1901283	rs9941566	rs3087387	rs7421436	rs10207435
rs7602535	rs3792153	rs13400661	rs7598629	rs3087395
rs2290259	rs7585019	rs3087403	rs17763718	rs2290258
rs13394688	rs3087390	rs4535093	rs9308819	rs10207981
rs10186223	rs10206944	rs2290257		

IGF2R

rs3798189	rs8191748	rs1570070	rs8191771	rs3798188
rs8191750	rs8191764	rs8191772	rs3798187	rs8191751
rs8191765	rs8191773	rs9365122	rs3798186	rs408889
rs13198308	rs9347380	rs6455680	rs8191766	rs8191774
rs6904531	rs8191752	rs8191767	rs8191775	rs2342868
rs11751626	rs8191768	rs2297358	rs12174439	rs8191753
rs2297357	rs3777413	rs12173776	rs8191754 **(Leu 252 Val)**	rs8191769
rs3798185	rs9347382	rs8191770	rs435612	rs9365124
rs2297356	rs448116	rs8191776	rs9457809	rs8191755
rs399919	rs6413489	rs12179343	rs8191756	rs1867348
rs894817	rs449276	rs8191757	rs7762627	rs9456496

rs9295121	rs7763887	rs9456497	rs9365125	rs11758686
rs9457811	rs8191758	rs681401	rs9457812	rs8191759
rs9456499	rs9295120	rs8191760	rs12662414	rs9456498
rs8191761	rs4709391	rs2277071	rs4709390	rs13218689
rs11759563	rs8191762	rs13220128	rs8191746	rs8191763
rs1036951	rs2277070	rs12374637	rs4709392	rs8191747
rs12374638	rs3777414			

IL10

rs1800896 **(-1082 A/G)**	rs3021098	rs5743626	rs3024509	rs2222202
rs1554286	rs5743627	rs1800894	rs3024490	rs2352792
rs3024495	rs1800871	rs3790622	rs3024492	rs5743628
rs1800895	rs3021093	rs3024507	rs3024496	rs1800872
rs3024491	rs3024493	rs3024497	rs3024488	rs3021094
rs1878672	rs3024510	rs3024489	rs1518110	rs3024508
rs3024498	rs5743625	rs3024506	rs9282740	rs3001099
rs1518111	rs3024494			

APLICAÇÃO INDUSTRIAL

A presente invenção é dirigida a métodos para avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão. Os métodos compreendem a análise de polimorfismos aqui mostrados como estando associados a um risco aumentado ou diminuído de desenvolver câncer de pulmão ou a análise de resultados obtidos de tal análise. O uso de polimorfismos aqui mostrado estando associados a um risco aumentado ou diminuído de desenvolver câncer de pulmão na avaliação do risco de um indivíduo também é proporcionado, assim como sondas e primers de nucleotídeo, kits e microarranjos adequados por tal avaliação. Métodos de tratamento de indivíduos tendo os polimorfismos aqui descritos também são proporcionados. Métodos para seleção de compostos capazes de modular a expressão de genes associados aos polimorfismos aqui descritos também são proporcionados.

Publicações

Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. Chest 2003, 123, 21s-49s.

Anthonisen NR. Prognosis in COPD: results from multi-center clinical trials. Am Rev Respir Dis 1989, 140, s95-s99.

Cantlay AM, Smith CA, Wallace WA, Yap PL, Lamb D, Harrison DJ. Heterogeneous expression and polymorphic genotype of glutathione S-transferases in human lung. Thorax. 1994, 49(10): 1010-4,

Kuller LH et al.. Relation of forced expiratory volume in one second to lung cancer mortality in the MRFIT. Am J Epidmiol 1190, 132, 265-274.

Mayne ST et al.. Previous lung disease and risk of lung cancer among men and women nonsmokers. Am J Epidemiol 1999, 149, 13-20.

Nomura A et al.. Prospective study of pulmonary function and lung cancer. Am Rev Respir Dis 1991, 144, 307-311,

Schwartz AG. Genetic predisposition to lung câncer. Chest 2004, 125, 86s-89s.

Skillrud DM et al.. Higher risk of lung cancer in COPD: a prospective matched controlled study. Ann Int Med 1986, 105, 503-507.

Tockman MS et al.. Airways obstruction and the risk of lung cancer. Ann Int Med 1987, 106, 512-518.

Wu X, Zhao H, Suk R, Christiani DC. Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. Oncogene 2004, 23, 6500-6523.

***

Todas as patentes, publicações, artigos científicos e outros documentos e materiais citados ou mencionados aqui são indicativos dos níveis de habilidade daqueles versados na técnica à qual a invenção pertence e cada um de tais documentos e materiais citados é aqui incorporado por referência até o mesmo ponto como se tivessem sido incorporados por referência em sua totalidade individualmente ou apresentado aqui em sua totalidade. Os requerentes se reservam o direito de incorporar fisicamente à presente relatório descritivo qualquer e todos os materiais e informação de qualquer uma de tais patentes, publicações, artigos científicos, web sites, informação eletronicamente disponível e outros materiais ou documentos

citados.

Os métodos e composições específicos descritos aqui são representativos de várias modalidades ou modalidades preferidas e são exemplificativos apenas e não se destinam a ser limitações do escopo da invenção. Outros objetivos, aspectos, exemplos e modalidades ocorrerão para temperatura quando de consideração da presente relatório descritivo e são abrangidos dentro do espírito da invenção, conforme definido pelo escopo das reivindicações. Será prontamente evidente para aqueles versados na técnica que substituições e modificações variadas podem ser feitas na invenção divulgada aqui sem se desviar do escopo e espírito da invenção. A invenção ilustrativamente descrita aqui pode ser adequadamente praticada na ausência de qualquer elemento ou elementos ou limitação ou limitações, os quais não são especificamente descritos aqui como essenciais. Assim, por exemplo, em cada caso aqui, em modalidades ou exemplos da presente invenção, qualquer um dos termos "compreendendo", "consistindo essencialmente em" e "consistindo em" pode ser substituído por qualquer um dos outros dois termos no relatório descritivo, assim, indicando exemplos adicionais, tendo diferente escopo, de várias modalidades alternativas da invenção. Também, os termos "compreendendo", "incluindo", "contendo", etc. devem ser lidos expansivamente e sem limitação. Os métodos e processos ilustrativamente descrito aqui podem ser adequadamente praticados em diferentes ordens de etapas e que eles não estão necessariamente restritos às ordens de etapas indicadas aqui ou nas reivindicação. Também, conforme usado aqui e nas reivindicações em anexo, as formas no singular "um", "uma", "o" e "a" incluem a referência no plural, a menos que o contexto indique claramente de outro modo. Assim, por exemplo, uma referência a "uma célula hospedeira" inclui uma pluralidade (por exemplo, uma cultura ou população) de tais células hospedeiras e assim por diante. Sob nenhuma circunstância pode a patente ser interpretada como estando limitada aos exemplos ou modalidades ou métodos específicos especificamente descritos aqui. Sob nenhuma circunstância, pode a patente estar limitada a qualquer afirmação feita por qualquer Examinador ou qualquer outro oficial ou empregado do

Patent and Trademark Office, a menos que tal afirmação seja especificamente e sem qualquer qualificação ou reserva expressamente adotada em consentimento por escrito pelos Requerentes.

Os termos e expressões que foram empregados são usados como termos de descrição e não de limitação e não há intenção, quando de uso de tais termos e expressões, de excluir qualquer equivalente das características mostradas e descritas ou partes das mesmas, mas é reconhecido que várias modificações são possíveis dentro do escopo da invenção, conforme reivindicado. Assim, será compreendido que, embora a presente invenção tenha sido especificamente divulgada através de modalidades preferidas e características opcionais, modificação e variação dos conceitos aqui descritos podem ser escolhidas por aqueles versados na técnica e que tais modificações e variações são consideradas como estando dentro do escopo da presente invenção, conforme definido pelas reivindicações em anexo.

Listagem de Seqüência

<110> Synergenz Bioscience Limited
Young, Robert

<120> Métodos para avaliação de risco de desenvolvimento de câncer de pulmão usando análise de polimorfismos genético

<130> 542844

<150> NZ 540203
<151> 2005-05-19

<150> NZ 541787
<151> 2005-08-11

<150> NZ 543297
<151> 2005-10-28

<160> 145

<170> Versão 3.2 da PatentIn

<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 1
tcgtgagaat gtcttcccat t 21

<210> 2
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223>

<400> 2
tcttggattg atttgagata agtgaaatc 29

<210> 3
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 3
acgttggatg aaaccagagg gaagcaaagg 30

<210> 4
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 4

acgttggatg tcattggttg tgctgcacct 30

<210> 5
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 5
acgttggatg caccaggaac cgtttatggc 30

<210> 6
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 6
acgttggatg agcagctaga atcagaggag 30

<210> 7
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 7
acgttggatg gtcaatgaag agaacttggt c 31

<210> 8
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 8
acgttggatg aatgtttatt gtagaaaacc 30

<210> 9
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 9
acgttggatg gggtattcat aagctgaaac 30

<210> 10
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220> Sintético
<223>

<400> 10
acgttggatg ccttcaagtt cagtggtcag 30

<210> 11
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 11
acgttggatg gtgattatct ttggcatggg 30

<210> 12
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223>

<400> 12
acgttggatg ggatagccag gaagagaaag 30

<210> 13
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223>

<400> 13
acgttggatg ccctatttct ttgtcttcac 30

<210> 14
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 14
acgttggatg cttgggataa tttggctctg 30

<210> 15
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 15
acgttggatg ggaacccttt ctgcgctttg 30

<210> 16

<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 16
acgttggatg cctacaggtg ctgttcagtg 30

<210> 17
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 17
acgttggatg cctgccaaag aagaaacacc 30

<210> 18
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 18
acgttggatg acgtctgcag gtatgtattc 30

<210> 19
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 19
acgttggatg gttcttaatt cataggttgc 30

<210> 20
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 20
acgttggatg cttcatttct catcatattt tc 32

<210> 21
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 21

cgttggatg taggtgtctc cccctgtaag 30

:210> 22
:211> 30
:212> DNA
:213> Artificial

:220>
:223> Synthetic

:400> 22
acgttggatg tcctctccag agtgatcaag 30

<210> 23
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 23
acgttggatg attttctcct cagaggctcc 30

<210> 24
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 24
acgttggatg tgtctgtatt gagggtgtgg 30

<210> 25
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 25
acgttggatg ttgtggctgc aacatgagag 30

<210> 26
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 26
acgttggatg ctatggcgca acatctgtac 30

<210> 27
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 27
acgttggatg actgtagttt ccctagtccc 30

<210> 28
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 28
acgttggatg agtcagcaga gagactaggg 30

<210> 29
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 29
acgttggatg gagttgagaa tggagagaat g 31

<210> 30
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 30
acgttggatg tcaagtgggc tgttagggtg 30

<210> 31
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 31
acgttggatg tgctgcgtgg tgggcgtgtg 30

<210> 32
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 32
acgttggatg ggccttgcac tcgctctcg 29

<210> 33

<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 33
acgttggatg aaacggtcgc ttcgacgtgc 30

<210> 34
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 34
acgttggatg acctcaagga ccagctcgg 29

<210> 35
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 35
acgttggatg actgaagctc cacaatttgg 30

<210> 36
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 36
acgttggatg gccactctag tactatatct g 31

<210> 37
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 37
acgttggatg cagacattca caattgattt 30

<210> 38
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 38

acgttggatg gatagttcca aacatgtgcg 30

<210> 39
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 39
acgttggatg taaggagtgg gtgctggact 30

<210> 40
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 40
acgttggatg aggataagga gcagggttgg 30

<210> 41
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 41
ttcttggttc aggagag 17

<210> 42
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 42
ttcttggttc aggagagc 18

<210> 43
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 43
gcaatctgct ctatcctct 19

<210> 44
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 44
gcaatctgct ctatcctctt 20

<210> 45
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 45
attcaagctt gccaaagtaa tc 22

<210> 46
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 46
attcaagctt gccaaagtaa tct 23

<210> 47
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 47
cataagctga aacttctgg 19

<210> 48
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 48
cataagctga aacttctggc 20

<210> 49
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 49
ggaagtgtat cggtgagacc 20

<210> 50

<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 50
ggaagtgtat cggtgagacc a 21

<210> 51
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 51
tgacaaatac tggttaatta gca 23

<210> 52
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 52
tgacaaatac tggttaatta gcaa 24

<210> 53
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 53
gctcctgagc atggcgg 17

<210> 54
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 54
gctcctgagc atggcggc 18

<210> 55
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 55

tacttattta cgcttgaacc tc 22

<210> 56
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 56
tacttattta cgcttgaacc tca 23

<210> 57
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 57
cttaattcat aggttgcaat ttt 23

<210> 58
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 58
cttaattcat aggttgcaat ttta 24

<210> 59
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 59
acatcaccct cacttac 17

<210> 60
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 60
acatcaccct cacttacc 18

<210> 61
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 61
aattgacaga gagctcc 17

<210> 62
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 62
aattgacaga gagctccc 18

<210> 63
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 63
atgagaggct cacagacgtt 20

<210> 64
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 64
atgagaggct cacagacgtt c 21

<210> 65
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 65
ggcatcaagc tcttccctgg c 21

<210> 66
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 66
ggcatcaagc tcttccctgg cc 22

<210> 67

<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 67
gaatgttacc tctcctg 17

<210> 68
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 68
gaatgttacc tctcctga 18

<210> 69
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 69
gcactcagag cgcaagaag 19

<210> 70
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 70
gcactcagag cgcaagaagc 20

<210> 71
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 71
gctgctgcag gccccagatg a 21

<210> 72
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 72

gctgctgcag gccccagatg at 22

<210> 73
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 73
cacaatttgg tgaattatca a 21

<210> 74
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 74
cacaatttgg tgaattatca at 22

<210> 75
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 75
ttcttacaac acaaaatcaa atc 23

<210> 76
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 76
ttcttacaac acaaaatcaa atct 24

<210> 77
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 77
tcggcggctg ccctccc 17

<210> 78
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 78
tcggcggctg ccctccca 18

<210> 79
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 79
ttcttggttc aggagaggt 19

<210> 80
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 80
gcaatctgct ctatcctctg c 21

<210> 81
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 81
attcaagctt gccaaagtaa tcgga 25

<210> 82
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 82
cataagctga aacttctggg a 21

<210> 83
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 83
ggaagtgtat cggtgagacc gt 22

<210> 84

<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 84
tgacaaatac tggttaatta gcagt 25

<210> 85
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 85
gctcctgagc atggcggga 19

<210> 86
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 86
tacttattta cgcttgaacc tcga 24

<210> 87
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 87
cttaattcat aggttgcaat tttgt 25

<210> 88
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 88
acatcaccct cacttactg 19

<210> 89
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 89

aattgacaga gagctcctg 19

<210> 90
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 90
atgagaggct cacagacgtt tc 22

<210> 91
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 91
ggcatcaagc tcttccctgg ctg 23

<210> 92
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 92
gaatgttacc tctcctggc 19

<210> 93
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 93
gcactcagag cgcaagaagg ggc 23

<210> 94
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 94
gctgctgcag gccccagatg agc 23

<210> 95
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 95
cacaatttgg tgaattatca aat 23

<210> 96
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 96
ttcttacaac acaaaatcaa atcac 25

<210> 97
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 97
tcggcggctg ccctcccgga 20

<210> 98
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 98
acgttggatg aggtagctga agaggcaaac 30

<210> 99
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 99
acgttggatg gcctatagcc tctaaaacgc 30

<210> 100
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 100
acgttggatg ctttcaattt gtggaggctg 30

<210> 101

<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 101
acgttggatg tgtgcactca tttgtggacg 30

<210> 102
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 102
acgttggatg gtagctctcc aggcatcaac 30

<210> 103
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 103
acgttggatg gtacctggtt ccccctttc 30

<210> 104
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 104
acgttggatg acaccaggcg tttgatgttg 30

<210> 105
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 105
acgttggatg aaaaacgcca acagcatcgg 30

<210> 106
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 106

acgttggatg aggcggagat gggtgtgtc 29

<210> 107
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 107
acgttggatg agtctagggt ggggtatgtg 30

<210> 108
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 108
acgttggatg atgtgtggat tcacagctcg 30

<210> 109
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 109
acgttggatg gggttggcaa ctctaaaagg 30

<210> 110
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 110
acgttggatg ctctgaaatc agtgctgctc 30

<210> 111
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 111
acgttggatg atggtcaaca gtgttgccag 30

<210> 112
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 112
acgttggatg cacctcttga ttgctttccc 30

<210> 113
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 113
acgttggatg acccggcctt cctgatcatg 30

<210> 114
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 114
acgttggatg attccatgga ggctggatag 30

<210> 115
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 115
acgttggatg gacaacacta ctaaggcttc 30

<210> 116
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 116
aaaaggtttc tcccccc 17

<210> 117
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 117
aaaaggtttc tcccccccc 18

<210> 118

<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 118
aggctgcttc ttggact 17

<210> 119
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 119
aggctgcttc ttggactc 18

<210> 120
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 120
caaagatggg cgtgatg 17

<210> 121
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 121
caaagatggg cgtgatga 18

<210> 122
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 122
gccagccccg ggacgga 17

<210> 123
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 123

gccagccccg ggacggac 18

<210> 124
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 124
atgggtgtgt ctgccgg 17

<210> 125
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 125
atgggtgtgt ctgccgga 18

<210> 126
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 126
ggctgtaagg aaatctggg 19

<210> 127
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 127
ggctgtaagg aaatctggga 20

<210> 128
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 128
ccttatcctc ctcctgggaa 20

<210> 129
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 129
ccttatcctc ctcctgggaa a 21

<210> 130
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 130
tgtttcattt ctataggcga 20

<210> 131
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 131
tgtttcattt ctataggcga t 21

<210> 132
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 132
cctatcccta cttcccc 17

<210> 133
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 133
cctatcccta cttccccc 18

<210> 134
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 134
aaaaggtttc tccccccga 19

<210> 135

<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 135
aggctgcttc ttggactga 19

<210> 136
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 136
caaagatggg cgtgatggc 19

<210> 137
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 137
gccagccccg ggacggagt 19

<210> 138
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 138
atgggtgtgt ctgccgggt 19

<210> 139
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 139
ggctgtaagg aaatctgggg gt 22

<210> 140
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 140

ccttatcctc ctcctgggaa ga 22

<210> 141
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 141
tgtttcattt ctataggcga gga 23

<210> 142
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 142
cctatcccta cttccccttc 20

<210> 143
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 143
ctgccctact tgattgatgg 20

<210> 144
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 144
atcttctcct cttctgtctc 20

<210> 145
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic

<400> 145
ttctggattg tagcagatca 20

REIVINDICAÇÕES

1. Método de determinação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão compreendendo:

análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismo selecionados do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos;

em que a presença ou ausência de um ou mais dos referidos polimorfismos é indicativa do risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, em que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;

o genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;

o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;
o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;
o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;
o genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;
o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R; ou
o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;
é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 em que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;
o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;
o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF; ou
o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

4. Método de acordo com a reivindicação 1 em que o método compreende análise da referida amostra com relação à presença ou ausência de um ou mais de outros polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
Arg 399 Gln G/A na complementação de reparo de raio X defectivo no gene 1 (XRCC1) de hâmster Chinês;
-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);
A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);
-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);
-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);
-751 G/T no promotor do gene do grupo D (XPD) de complementação de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);
Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);
Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);
1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);
C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;
GSTM nulo no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);
-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase 1 de matriz (MMP1);
Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);
Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;
Asp 148 Glu G/T no gene que codifica Nuclease Apex (APE1); ou
um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com um ou mais desses polimorfismos.

5. Método de acordo com a reivindicação **4** em que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;
o genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;
o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;
o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;
o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;
o genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;
o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R;
o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10
o genotipo -251 AA no gene que codifica IL-8;
o genotipo Arg 399 Gln AA no gene XRCC1 ;
o genotipo A870G GG no gene que codifica CCND1;
o genotipo -751 GG no promotor do gene XPD ;
o genotipo Ile 462 Val AG ou GG no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo Ser 326 Cys GG no gene que codifica OGG1; ou

o genotipo Phe 257 Ser CC no gene que codifica REV1;
é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

6. Método de acordo com a reivindicação 4 ou a reivindicação 5, em que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;
o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;
o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;
o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF;
o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
o genotipo -511 GG no gene que codifica IL-1B;
o genotipo A-670G AA no gene que codifica FAS;
o genotipo Arg 197 Gln GG no gene que codifica NAT2;
o genotipo Ile462 Val AA no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo 1019 G/C Pst I CC ou CG no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo C/T Rsa TT ou TC no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo GSTM nulo no gene que codifica GSTM;
o genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
o genotipo Gln 185 Glu CC no gene que codifica NBS1; ou
o genotipo Asp 148 Glu GG no gene que codifica APE1;
é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

7. Método de avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, o referido método compreendendo as etapas de:
(i) determinação da presença ou ausência de pelo menos um polimorfismo protetor associado a um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão; e
(ii) na ausência de pelo menos um polimorfismo protetor, determinação da presença ou ausência de pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade associado a um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão;
em que a presença de um ou mais dos referidos polimorfismos protetores é

indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão e a ausência de pelo menos um polimorfismo protetor em combinação com a presença de pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

8. Método de acordo com a reivindicação 7 em que o referido pelo menos um polimorfismo protetor é selecionado do grupo consistindo em:

o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;

o genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;

o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;

o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;

o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;

o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;

o genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;

o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R;

o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;

o genotipo -251 AA no gene que codifica IL-8;

o genotipo Arg 399 Gln AA no gene XRCC1;

o genotipo A870G GG no gene que codifica CCND1;

o genotipo -751 GG no promotor do gene XPD ;

o genotipo Ile 462 Val AG ou GG no gene que codifica CYP1A1;

o genotipo Ser 326 Cys GG no gene que codifica OGG1; ou

o genotipo Phe 257 Ser CC no gene que codifica REV1.

9. Método de acordo com a reivindicação 7 ou 8 em que o referido pelo menos um polimorfismo de suscetibilidade é um genótipo selecionado do grupo consistindo em:

o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;

o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;

o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;

o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;

o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF;
o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
o genotipo -511 GG no gene que codifica IL-1B;
o genotipo A-670G AA no gene que codifica FAS;
o genotipo Arg 197 Gln GG no gene que codifica NAT2;
o genotipo Ile462 Val AA no gene que codifica CYP1A1;
o genotipo 1019 G/C Pst I CC ou CG no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo C/T Rsa TT ou TC no gene que codifica CYP2E1;
o genotipo GSTM nulo no gene que codifica GSTM;
o genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
o genotipo Gln 185 Glu CC no gene que codifica NBS1; ou
o genotipo Asp 148 Glu GG no gene que codifica APE1.

10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 9, em que a presença de dois ou mais polimorfismos protetores, a despeito da presença de um ou mais polimorfismos de suscetibilidade, é indicativa de risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 9, em que, na ausência de um polimorfismo protetor, a presença de um ou mais polimorfismos de suscetibilidade é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 9 em que a presença de dois ou mais polimorfismos de suscetibilidade é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

13. Método de determinação de risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão compreendendo análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença de dois ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);
-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;
Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);
Ala 15 Thr no gene que codifica Antiquimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

Arg 399 Gln G/A na complementação de reparo de raio X defectivo no gene 1 (XRCC1) de hâmster Chinês;

-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);

A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);

-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);

-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);

-751 G/T no promotor do gene do grupo D (XPD) de complementação de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);

Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);

Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);

1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);

C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;

GSTM nulo no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);

-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase 1 de matriz (MMP1);

Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);

Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;
Asp 148 Glu G/T no gene que codifica Nuclease Apex (APE1);
ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, em que o referido método compreende a análise de um ou mais fatores de risco epidemiológicos.

15. Método de determinação de risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, o referido método compreendendo as etapas de: (i) obtenção do resultado de um ou mais testes genéticos de uma amostra do referido indivíduo; e (ii) análise do resultado com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:
Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);
-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;
Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);
Ala 15 Thr no gene que codifica Antiquimiotripsina (ACT);
Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);
105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);
-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;
874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);
-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);
-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);
-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);
+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);
íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);
Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);
-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);
ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação

com qualquer um ou mais desses polimorfismos;

em que um resultado indicando a presença ou ausência de um ou mais dos referidos polimorfismos é indicativa do risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

16. Método de acordo com a reivindicação 15 em que um resultado indicando a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

o genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;

o genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;

o genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;

o genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;

o genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;

o genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;

o genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;

o genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R; ou

o genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;

é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

17. Método de acordo com a reivindicação 15 em que um resultado indicando a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

o genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;

o genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;

o genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;

o genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;

o genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;

o genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;

o genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF; ou

o genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;

é indicativa de um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão.

18. Uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou iniciadores para uso no método como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 17,

em que uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou primers abrangem ou são capazes de ser usados para abranger as regiões polimórficas dos genes nos quais o polimorfismo a ser analisado está presente.

19. Uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou iniciadores de acordo com a reivindicação 18 compreendendo a seqüência de qualquer uma de SEQ.ID.NO.1 a SEQ.ID.NO.145.

20. Microarranjo de ácido nucléico o qual compreende um substrato apresentando seqüências de ácido nucléico capazes de hibridizar as seqüências de ácido nucléico que codificam um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo definido na reivindicação 1 ou seqüências complementares às mesmas.

21. Uso de pelo menos um polimorfismo na avaliação de risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, em que o referido pelo menos um polimorfismo é selecionado do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R); ou

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

ou um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um dos referidos polimorfismos.

22. Uso de acordo com a reivindicação 21 em que o referido uso é em conjunto com o uso de pelo menos um outro polimorfismo selecionado do grupo consistindo em:

Arg 399 Gln G/A na complementação de reparo de raio X defectivo no gene 1 (XRCC1) de hâmster Chinês;

-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);

A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);

-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);

-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);

-751 G/T no promotor do gene do grupo D (XPD) de complementação de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);

Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);

Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);

1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);

C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;

GSTM nulo no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);

-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase 1 de matriz (MMP1);

Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);

Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;

Asp 148 Glu G/T no gene que codifica Nuclease Apex (APE1);

ou um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um dos referidos polimorfismos.

23. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão compreendendo a etapa de replicação, genotípica ou fenotipicamente, da presença e/ou efeito funcional de um polimorfismo protetor selecionado do grupo definido na reivindicação 8 no referido indivíduo.

24. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão, o referido indivíduo tendo um polimorfismo de suscetibilidade detectável selecionado do grupo definido na reivindicação 9, o qual super-regula ou sub-regula a expressão de um gene de modo que a concentração fisiologicamente ativa do produto genético expresso está foram de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo, o referido método compreendendo a etapa de restauração da concentração fisiologicamente ativa do referido produto de expressão genética para estar dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo.

25. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genótipo AA no polimorfismo 105 C/A no gene que codifica interleucina 18 foi determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de aumentar a atividade de interleucina 18 no referido indivíduo.

26. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genotipo CC no polimorfismo -133 G/C no promotor do gene que codifica interleucina 18 foi determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de aumentar a atividade de interleucina 18 no referido indivíduo.

27. Método de determinação de risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão compreendendo a análise de dois ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica NOS3;

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica SOD3;

-251 A/T no gene que codifica IL-8;

Ala 15 Thr no gene que codifica ACT;

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica MMP12;

105 A/C no gene que codifica IL-18;

-133 G/C no promotor do gene que codifica IL-18;

874 A/T no gene que codifica IFNYγ;
Arg 399 Gln G/A no gene XRCC1;
A870G no gene que codifica CCND1;
-511 A/G no gene que codifica IL-1B;
-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);
-751 G/T no promotor do gene XPD;
Ile 462 Val A/G no gene que codifica CYP1A1;
Ser 326 Cys G/C no gene que codifica OGG1;
Arg 197 Gln A/G no gene que codifica NAT2;
1019 G/C Pst I no gene que codifica CYP2E1;
C/T Rsa I no gene que codifica CYP2E1;
GSTM nulo no gene que codifica GSTM;
-765 C/G no promotor do gene que codifica COX2;
-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
-447 G/C no gene que codifica CTGF;
-221 C/T no gene que codifica MUC5AC;
+161 G/A no gene que codifica MBL2;
íntron 1 C/T no gene que codifica Arg1;
Leu 252 Val C/G no gene que codifica IGF2R;
-1082 A/G no gene que codifica IL-10;
Gln 185 Glu G/C no gene que codifica NBS1;
Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;
Asp 148 Glu G/T no gene que codifica APE1; ou
um ou mais polimorfismos em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

28. Microarranjo de anticorpo para uso nos métodos de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17 ou 27, microarranjo o qual compreende um substrato apresentando anticorpos capazes de ligação a um produto da expressão de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor de acordo com a reivindicação 2 ou 3.

29. Método para seleção de compostos que modulam a expres-

são e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor selecionado do grupo definido na reivindicação 2 ou na reivindicação 3, o referido método compreendendo as etapas de:

contato de um composto candidato com uma célula compreendendo um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor o qual foi determinado como estando associado com a super-regulação ou sub-regulação de expressão de um gene; e

medição da expressão do referido gene após contato com o referido composto candidato, em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de contato, quando comparado a antes da etapa de contato, é indicativa da capacidade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

30. Método de acordo com a reivindicação 29, em que a referida célula é uma célula de pulmão humano a qual foi pré-selecionada para confirmar a presença do referido polimorfismo.

31. Método de acordo com a reivindicação 29 ou 30, em que a referida célula compreende um polimorfismo de suscetibilidade associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais sub-regulam a expressão do referido gene.

32. Método de acordo com a reivindicação 29 ou 30, em que a referida célula compreende um polimorfismo de suscetibilidade associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida análise é por compostos candidatos os quais super-regulam expressão do referido gene.

33. Método de acordo com a reivindicação 29 ou 30, em que a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais ainda super-regulam a expressão do referido gene.

34. Método de acordo com a reivindicação 29 ou 30, em que a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais ainda sub-regulam a expressão do referido gene.

35. Método para seleção de compostos que modulam a expressão e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor selecionado do grupo definido na reivindicação 2 ou na reivindicação 3, o referido método compreendendo as etapas de:

contato de um composto candidato com uma célula compreendendo um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade ou protetor mas o qual, na referida célula, a expressão do qual não é super-regulada nem sub-regulada; e

medição da expressão do referido gene após contato com o referido composto candidato, em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de contato, quando comparado com antes da etapa de contato, é indicativa da capacidade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

36. Método de acordo com a reivindicação 35 em que a referida célula é uma célula de pulmão humano a qual foi pré-selecionada para confirmar a presença e nível de expressão de linha de base do referido gene.

37. Método de acordo com a reivindicação 35 ou 36 em que expressão do gene é sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade e a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

38. Método de acordo com a reivindicação 35 ou 36 em que expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade e a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

39. Método de acordo com a reivindicação 35 ou 36 em que a expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo protetor e a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

40. Método de acordo com a reivindicação 35 ou 36 em que a expressão do gene é sub-regulada quando associada a um polimorfismo

protetor e a referida seleção é por compostos candidatos os quais, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

41. Método de avaliação da provável responsividade de um indivíduo pré-disposto a ou diagnosticado com câncer de pulmão a um tratamento profilático ou terapêutico, tratamento o qual envolve restauração da concentração fisiologicamente ativa de um produto da expressão do gene para estar dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo, método o qual compreende detecção, no referido indivíduo, da presença ou ausência de um polimorfismo de suscetibilidade selecionado do grupo definido na reivindicação 3 o qual, quando presente, super-regula ou sub-regula a expressão do referido gene, de modo que a concentração fisiologicamente ativa do produto do gene expresso está fora da referida faixa normal, em que a detecção da presença do referido polimorfismo é indicativa da probabilidade de resposta do indivíduo ao referido tratamento.

42. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genotipo GG no polimorfismo -765 C/G presente no promotor do gene que codifica COX2 foi determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de redução da atividade de COX2 no referido indivíduo.

43. Método de acordo com a reivindicação 42, em que o referido agente é um inibidor de COX2 ou um fármaco antiinflamatório não esteroidal (NSAID).

44. Método de acordo com a reivindicação 43, em que o referido inibidor de COX2 é selecionado do grupo consistindo em Celebrex (Celecoxib), Bextra (Valdecoxib) e Vioxx (Rofecoxib).

45. Método de tratamento de um indivíduo tendo um risco aumentado de desenvolver câncer de pulmão e para o qual a presença do genótipo 2G2G no polimorfismo -1607 1G/2G no promotor do gene que codifica MMP1 foi determinada, o referido método compreendendo administração, ao referido indivíduo, de um agente capaz de redução de atividade de MMP1 no referido indivíduo.

46. Método de acordo com a reivindicação 45, em que o referido agente é um inibidor de MMP.

47. Método de acordo com a reivindicação 46, em que o referido inibidor de MMP é selecionado do grupo compreendendo ácido 4,5-dihidroxiantaquinona-2-carboxílico (AQCA), antraquinil-mercaptoetilamina, hidroxamato de antraquinil-alanina e derivados dos mesmos.

48. Método de acordo com a reivindicação 45, em que o referido agente é um agente capaz de aumentar a expressão de ou a atividade de um ou mais inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs).

49. Método de acordo com a reivindicação 48, em que os referidos inibidores teciduais de metaloproteinases são um ou mais de TIMP1, TIMP2, TIMP3 ou TIMP4.

50. Método de acordo com a reivindicação 45, em que o referido agente é um agente capaz de reduzir a expressão de ou a atividade de uma ou mais MMPs ligadas à membrana.

51. Kit para avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver uma ou mais doenças pulmonares obstrutivas selecionadas de câncer de pulmão, o referido kit compreendendo um meio de análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo consistindo em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

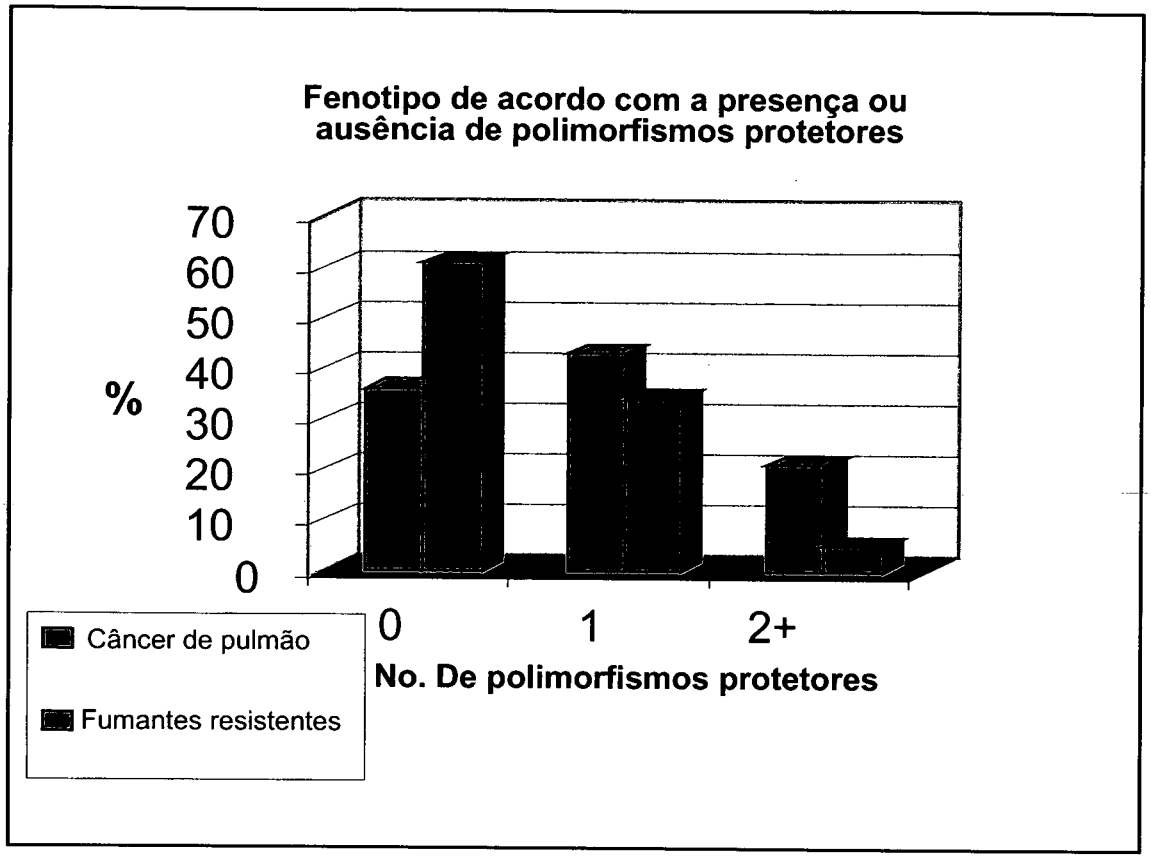

Fenotipo de acordo com a presença ou ausência de polimorfismos protetores
70
60
50
40
30
20
10
0
%
0
1
2+
No. De polimorfismos protetores
Câncer de pulmão
Fumantes resistentes

Fig.1

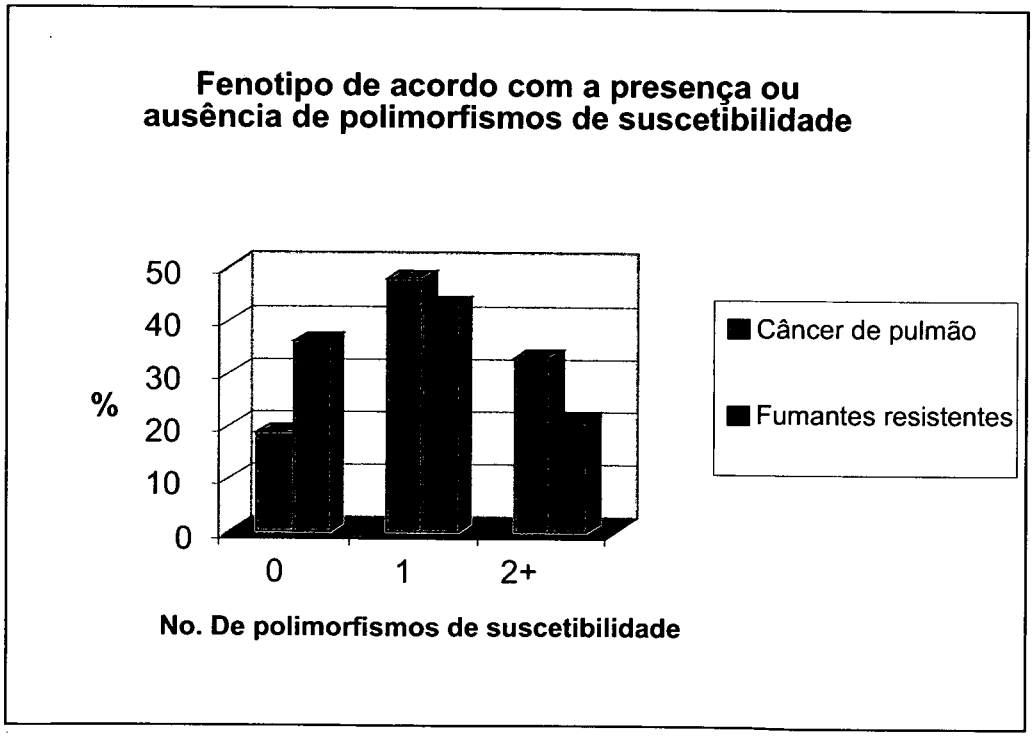

Fenotipo de acordo com a presença ou ausência de polimorfismos de suscetibilidade
50
40
30
20
10
0
%
0
1
2+
No. De polimorfismos de suscetibilidade
Câncer de pulmão
Fumantes resistentes

Fig. 2

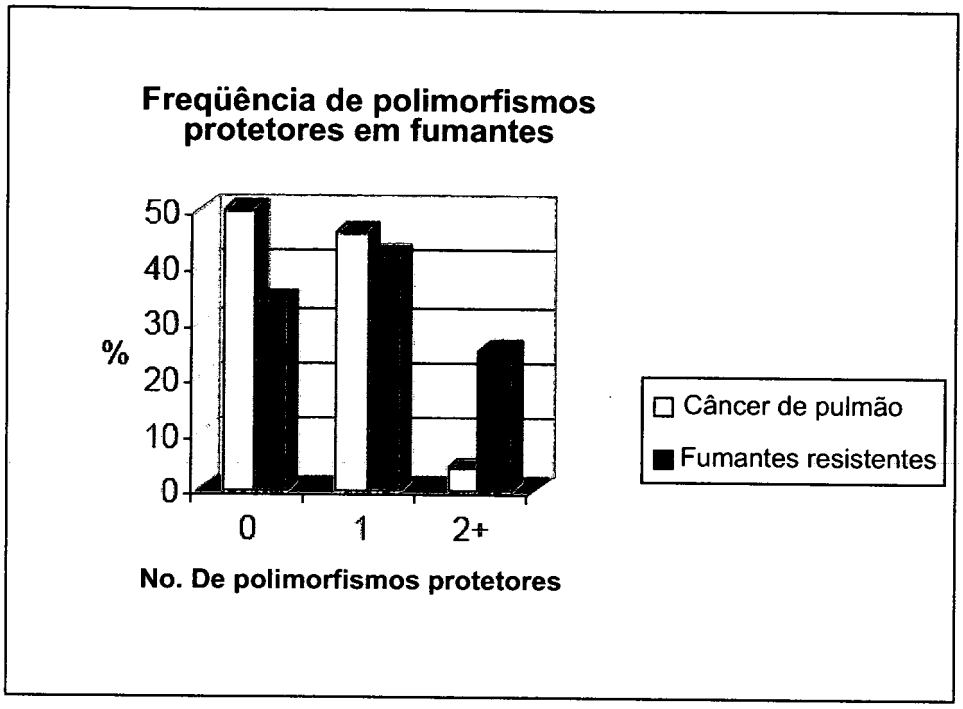

Freqüência de polimorfismos protetores em fumantes
50
40
30
%
20
10
0
0
1
2+
No. De polimorfismos protetores
Câncer de pulmão
Fumantes resistentes

Fig.3

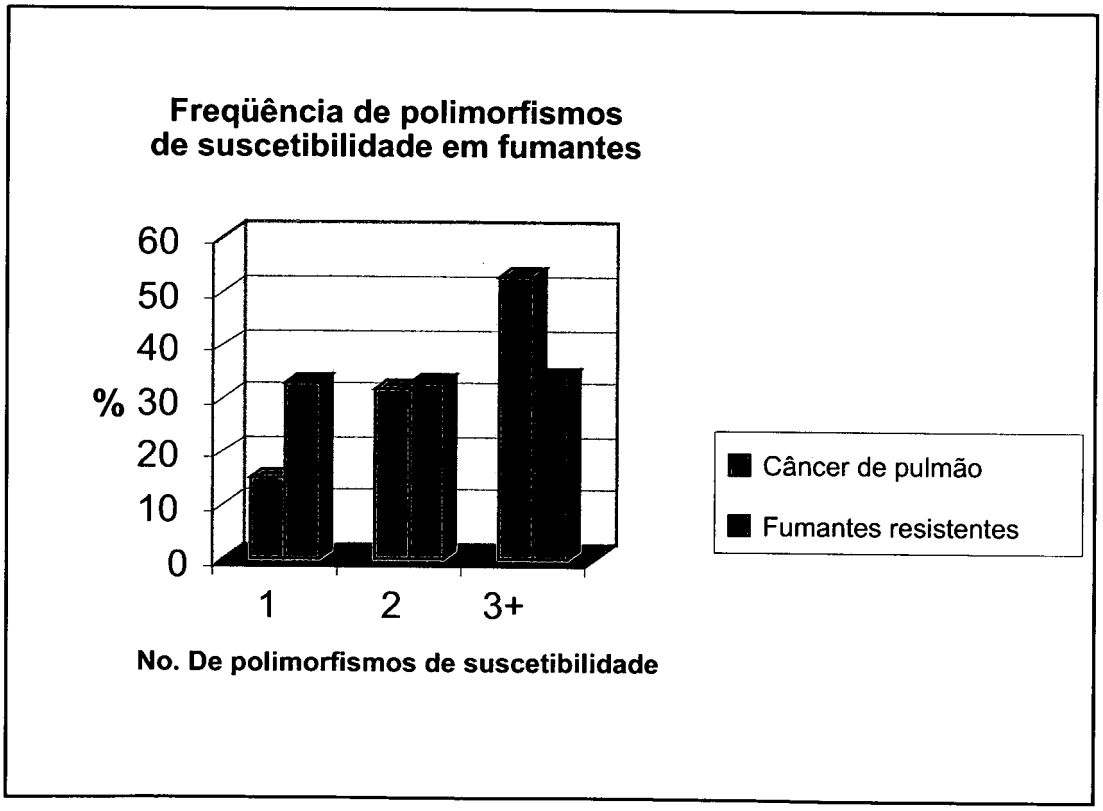

Freqüência de polimorfismos de suscetibilidade em fumantes
60
50
40
% 30
20
10
0
1
2
3+
No. De polimorfismos de suscetibilidade
Câncer de pulmão
Fumantes resistentes

Fig.4

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE PULMÃO USANDO ANÁLISE DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS".**

A presente invenção refere-se a métodos para a avaliação do risco de desenvolver câncer de pulmão em fumantes e não fumantes usando análise de polimorfismos genéticos. A presente invenção também refere-se ao uso de polimorfismos genéticos na avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão. Sondas de nucleotídeo e primers, kits e microarranjos adequados para tal avaliação também são proporcionados.

02009005 0063

PI0610065-1

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO E KIT DE DETERMINAÇÃO DO RISCO DE UM INDIVÍDUO DE DESENVOLVER CÂNCER DE PULMÃO, SONDA DE NUCLEOTÍDEO E/OU INICIADORES, MICROARRANJO DE ÁCIDO NUCLÉICO, MÉTODO PARA SELEÇÃO DE COMPOSTOS QUE MODULAM A EXPRESSÃO E/OU ATIVIDADE DE UM GENE, E MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA PROVÁVEL RESPONSIVIDADE DE UM INDIVÍDUO A UM TRATAMENTO PROFILÁTICO OU TERAPÊUTICO".**

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a métodos para avaliação de função e/ou distúrbios pulmonares e, em particular, para avaliação do risco de desenvolvimento de câncer de pulmão em fumantes e não-fumantes usando análise de polimorfismos genéticos e expressão de gene alterada.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Câncer de pulmão é o segundo câncer mais comum e tem sido atribuído primariamente ao fumo de cigarros. Outros fatores que contribuem para o desenvolvimento de câncer de pulmão incluem exposição ocupacional, fatores genéticos, exposição a radônio, exposição a outros aero-poluentes e possivelmente fatores dietéticos (Alberg AJ et al., 2003). Estima-se que não-fumantes tenham um risco de um em 400 de câncer de pulmão (0,25%). O fumo aumenta o risco em aproximadamente 40 vezes, de modo que fumantes têm um risco de um em 10 de câncer de pulmão (10%) e, em fumantes a longo prazo, o risco de câncer de pulmão ao longo da vida foi reportado como sendo tão alto quanto 10-15% (Schwartz AG. 2004). Acredita-se que fatores genéticos exerçam alguma parte, conforme evidenciado por uma fraca tendência familial (entre fumantes) e o fato de que apenas a minoria dos fumantes têm câncer de pulmão. Em geral, é aceito que a maior parte dessa tendência genética se origina de polimorfismos de alta freqüência de baixa penetração, isto é, polimorfismos os quais são comuns na população geral que, no contexto de exposição crônica ao fumo, contribuem coletivamente para o desenvolvimento de câncer (Schwartz AG. 2004, Wu X et al., 2004). Vários estudos epidemiológicos reportaram que a função pulmonar deficiente (Anthonisen NR. 1989, Skillrud DM. 1986, Tockman MS et al., 1987, Kuller LH et al., 1990, Nomura A et al., 1991) ou sintomas de doença pulmonar obstrutiva (Mayne ST et al., 1999) são fatores de risco independentes para câncer de pulmão e são, possivelmente, mais relevantes do que a dose de exposição ao fumo.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de determinação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

(i) obter o resultado de um ou mais testes genéticos de uma amostra do referido indivíduo; e

(ii) analisar o resultado com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos;

em que um resultado indicando a presença ou ausência de um

ou mais dos referidos polimorfismos é indicativa do risco do indivíduo de desenvolver câncer de pulmão.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que um resultado indicando a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;
genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;
genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;
genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;
genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;
genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;
genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;
genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;
genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R; ou
genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10;
é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de um resultado indicando a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;
genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;
genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;
genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF; ou
genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
é indicativa de um risco elevado de desenvolver câncer de pulmão.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo

fato de que compreende a análise do resultado com relação à presença ou ausência de um ou mais de outros polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

Arg 399 Gln G/A na complementação de reparo de raio X defectivo no gene 1 (XRCC1) de hâmster Chinês;

-251 A/T no gene que codifica Interleucina-8 (IL-8);

A870G no gene que codifica Ciclina D (CCND1);

-511 A/G no gene que codifica Interleucina 1B (IL-1B);

-670G no gene que codifica FAS (Apo-1/CD95);

-751 G/T no promotor do gene do grupo D (XPD) de complementação de Xeroderma pigmentosum;

Ile 462 Val A/G no gene que codifica Citocroma P450 1A1 (CYP1A1);

Ser 326 Cys G/C no gene que codifica glicolase de DNA de 8-oxoguanina (OGG1);

Arg 197 Gln A/G no gene que codifica N-acetiltransferase 2 (NAT2);

1019 G/C Pst I no gene que codifica Citocroma P450 2E1 (CYP2E1);

C/T Rsa I no gene que codifica Citocroma P450 2E1;

GSTM nulo no gene que codifica S-transferase M de glutationa (GSTM);

-1607 1G/2G no promotor do gene que codifica Metaloproteinase 1 de matriz (MMP1);

Gln 185 Glu G/C no gene que codifica Nibrina (NBS1);

Phe 257 Ser C/T no gene que codifica REV1;

Asp 148 Glu G/T no gene que codifica Nuclease Apex (APE1); ou

um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com um ou mais desses polimorfismos.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

genotipo Asp 298 Glu TT no gene que codifica NOS3;
genotipo Arg 312 Gln CG ou GG no gene que codifica SOD3;
genotipo Asn 357 Ser AG ou GG no gene que codifica MMP12;
genotipo 105 AC ou CC no gene que codifica IL-18;
genotipo -133 CG ou GG no gene que codifica IL-18;
genotipo -765 CC ou CG no promotor do gene que codifica COX2;
genotipo -221 TT no gene que codifica MUC5AC;
genotipo do íntron 1 C/T TT no gene que codifica Arg1;
genotipo Leu252Val GG no gene que codifica IGF2R;
genotipo –1082 GG no gene que codifica IL-10
genotipo -251 AA no gene que codifica IL-8;
genotipo Arg 399 Gln AA no gene XRCC1 ;
genotipo A870G GG no gene que codifica CCND1;
genotipo -751 GG no promotor do gene XPD ;
genotipo Ile 462 Val AG ou GG no gene que codifica CYP1A1;
genotipo Ser 326 Cys GG no gene que codifica OGG1; ou
genotipo Phe 257 Ser CC no gene que codifica REV1;
é indicativa de um risco reduzido de desenvolver câncer de pulmão.

6. Método, de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que a presença de um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

genotipo -786 TT no promotor do gene que codifica NOS3;
genotipo Ala 15 Thr GG no gene que codifica ACT;
genotipo 105 AA no gene que codifica IL-18;
genotipo -133 CC no promotor do gene que codifica IL-18;
genotipo 874 AA no gene que codifica IFNYγ;
genotipo -765 GG no promotor do gene que codifica COX2;
genotipo -447 CC ou GC no gene que codifica CTGF;
genotipo +161 AA ou AG no gene que codifica MBL2;
genotipo -511 GG no gene que codifica IL-1B;

genotipo A-670G AA no gene que codifica FAS;
genotipo Arg 197 Gln GG no gene que codifica NAT2;
genotipo Ile462 Val AA no gene que codifica CYP1A1;
genotipo 1019 G/C Pst I CC ou CG no gene que codifica CYP2E1;
genotipo C/T Rsa TT ou TC no gene que codifica CYP2E1;
genotipo GSTM nulo no gene que codifica GSTM;
genotipo -1607 2G/2G no promotor do gene que codifica MMP1;
genotipo Gln 185 Glu CC no gene que codifica NBS1; ou
genotipo Asp 148 Glu GG no gene que codifica APE1;
é indicativa de um risco elevado de desenvolver câncer de pulmão.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que compreende a análise de um ou mais fatores de risco epidemiológicos.

8. Uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou iniciadores, caracterizada pelo fato de ser(em) para uso no método como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 17, em que uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou primers abrangem ou são capazes de ser usados para abranger as regiões polimórficas dos genes nos quais o polimorfismo a ser analisado está presente.

9. Uma ou mais sondas de nucleotídeo e/ou iniciadores, de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que compreende(m) a seqüência de qualquer uma de SEQ.ID.NO.1 a SEQ.ID.NO.145.

10. Microarranjo de ácido nucléico, caracterizado pelo fato de que compreende um substrato apresentando seqüências de ácido nucléico capazes de hibridizar as seqüências de ácido nucléico que codificam um ou mais dos polimorfismos selecionados do grupo, como definido na reivindicação 1 ou seqüências complementares às mesmas.

11. Microarranjo de anticorpo para uso nos métodos, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que compreende um substrato apresentando anticorpos capazes de se ligar

a um produto de expressão de um gene a expressão de cada é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade, como definido na reivindicação 3, ou protetor, como definido na reivindicação 2.

12. Método para seleção de compostos que modulam a expressão e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade selecionado do grupo, como definido na reivindicação 3, ou um polimorfismo protetor selecionado do grupo, como definido na reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

colocar em contato um composto candidato com uma célula compreendendo um polimorfismo de suscetibilidade selecionado a partir do grupo, como definido na reivindicação 3, ou um polimorfismo protetor selecionado do grupo, como definido na reivindicação 2, cada qual sendo determinado como estando associado com a super-regulação ou sub-regulação de expressão de um gene; e

medir a expressão do referido gene após colocá-lo em contato com o referido composto candidato,

em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de colocar em contato, quando comparado a antes da etapa de colocar em contato, é indicativa da capacidade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que a referida célula é uma célula de pulmão humano que foi pré-selecionada para confirmar a presença do referido polimorfismo.

14. Método, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que a referida célula compreende um polimorfismo de suscetibilidade associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos os quais sub-regulam a expressão do referido gene.

15. Método, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que a referida célula compreende um polimorfismo de sus-

cetibilidade associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida análise é por compostos candidatos que super-regulam expressão do referido gene.

16. Método, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à super-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos que ainda super-regulam a expressão do referido gene.

17. Método, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que a referida célula compreende um polimorfismo protetor associado à sub-regulação de expressão do referido gene e a referida seleção é por compostos candidatos que ainda sub-regulam a expressão do referido gene.

18. Método para seleção de compostos que modulam a expressão e/ou atividade de um gene, a expressão do qual é super-regulada ou sub-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade selecionado a partir do grupo, como definido na reivindicação 3, ou um polimorfismo protetor selecionado a partir do grupo, como definido na reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

colocar em contato um composto candidato com uma célula compreendendo um gene, a expressão deste é super-regulada ou sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade selecionado do grupo como definido na reivindicação 3 ou um polimorfismo protetor selecionado do grupo como definido na reivindicação 2 mas na referida célula a expressão de cada não é super-regulado nem sub-regulado; e

medir a expressão do referido gene após contato com o referido composto candidato,

em que uma alteração no nível de expressão após a etapa de colocar em contato, quando comparado com antes da etapa de colocar em contato, é indicativa da capacidade do composto de modular a expressão e/ou atividade do referido gene.

19. Método, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pe-

lo fato de que a referida célula é uma célula de pulmão humano a qual foi pré-selecionada para confirmar a presença e nível de expressão de linha de base do referido gene.

20. Método, de acordo com a reivindicação 18 ou 19, caracterizado pelo fato de que expressão do gene é sub-regulada quando associada com um polimorfismo de suscetibilidade e a referida seleção é por compostos candidatos que, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

21. Método, de acordo com a reivindicação 18 ou 19, caracterizado pelo fato de que expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo de suscetibilidade e a referida seleção é por compostos candidatos que, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

22. Método, de acordo com a reivindicação 18 ou 19, caracterizado pelo fato de que a expressão do gene é super-regulada quando associada a um polimorfismo protetor e a referida seleção é por compostos candidatos que, na referida célula, super-regulam a expressão do referido gene.

23. Método, de acordo com a reivindicação 18 ou 19, caracterizado pelo fato de que a expressão do gene é sub-regulada quando associada a um polimorfismo protetor e a referida seleção é por compostos candidatos que, na referida célula, sub-regulam a expressão do referido gene.

24. Método de avaliação da provável responsividade de um indivíduo pré-disposto a ou diagnosticado com câncer de pulmão a um tratamento profilático ou terapêutico, que envolve a restauração da concentração fisiologicamente ativa de um produto da expressão do gene para estar dentro de uma faixa a qual é normal para a idade e sexo do indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

(i) obter o resultado de um ou mais testes genéticos de uma amostra do referido indivíduo; e

(ii) analisar o resultado com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo como definido na reivindicação 3 que, quando presente, super-regula ou sub-regula a expressão do

referido gene, de modo que a concentração fisiologicamente ativa do produto do gene expresso está fora da referida faixa normal, em que a detecção da presença do referido polimorfismo é indicativa da probabilidade de resposta do indivíduo ao referido tratamento.

25. Kit para determinação do risco de um indivíduo de desenvolver uma ou mais doenças pulmonares obstrutivas selecionadas de câncer de pulmão, caracterizado pelo fato de que compreende um meio de análise de uma amostra do referido indivíduo com relação à presença ou ausência de um ou mais polimorfismos selecionados do grupo que consiste em:

Asp 298 Glu no gene que codifica Sintase 3 de óxido nítrico (NOS3);

-786 T/C no promotor do gene que codifica NOS3;

Arg 312 Gln no gene que codifica Dismutase de superóxido 3 (SOD3);

Ala 15 Thr no gene que codifica Anti-quimiotripsina (ACT);

Asn 357 Ser A/G no gene que codifica Metaloproteinase 12 da matriz (MMP12);

105 A/C no gene que codifica Interleucina-18 (IL-18);

-133 G/C no promotor do gene que codifica Interleucina-18;

874 A/T no gene que codifica Interferon gama (IFNYγ);

-765 G/C no gene que codifica Ciclooxigenase 2 (COX2);

-447 G/C no gene que codifica Fator de crescimento de tecido conectivo (CTGF);

-221 C/T no gene que codifica Mucina 5AC (MUC5AC);

+161 G/A no gene que codifica Lectina 2 de ligação à manose (MBL2);

íntron 1 C/T no gene que codifica Arginase 1 (Arg1);

Leu 252 Val C/G no gene que codifica Receptor do fator II de crescimento semelhante à insulina (IGF2R);

-1082 A/G no gene que codifica Interleucina 10 (IL-10);

ou um ou mais polimorfismos os quais estão em desequilíbrio de ligação com qualquer um ou mais desses polimorfismos.

PI0610065-1

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODO E KIT DE DETERMINAÇÃO DO RISCO DE UM INDIVÍDUO DE DESENVOLVER CÂNCER DE PULMÃO, SONDA DE NUCLEOTÍDEO E/OU INICIADORES, MICROARRANJO DE ÁCIDO NUCLÉICO, MÉTODO PARA SELEÇÃO DE COMPOSTOS QUE MODULAM A EXPRESSÃO E/OU ATIVIDADE DE UM GENE, E MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA PROVÁVEL RESPONSIVIDADE DE UM INDIVÍDUO A UM TRATAMENTO PROFILÁTICO OU TERAPÊUTICO".**

A presente invenção refere-se a métodos para a avaliação do risco de desenvolver câncer de pulmão em fumantes e não fumantes usando análise de polimorfismos genéticos. A presente invenção também refere-se ao uso de polimorfismos genéticos na avaliação do risco de um indivíduo de desenvolver câncer de pulmão. Sondas de nucleotídeo e primers, kits e microarranjos adequados para tal avaliação também são proporcionados.