



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

ANDERSON LOPES COELHO

**POLIMORFISMO *R72P* DO GENE *TP53* NO CÂNCER COLORRETAL:
Metanálise**

ANÁPOLIS-GO
2014

ANDERSON LOPES COELHO

**POLIMORFISMO *R72P* DO GENE *TP53* NO
CÂNCER COLORRETAL:
Metanálise**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Dr. Flávio Monteiro Ayres.

Anápolis – GO

2014

Coelho, Anderson Lopes.

Polimorfismo R72P do gene *TP53* no câncer colorretal: Metanálise – 2014.

93 folhas. il figuras.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres.

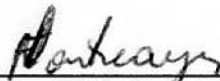
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, 2014.

1. câncer colorretal. 2. códon R72P. 3. Polimorfismo. I. Título.

ANDERSON LOPES COELHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, da Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

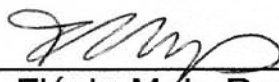
Aprovada em 18/12/2014 por:



Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres (UEG)



Prof. Dr. Ademir João Camargo (UEG)



Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues (UEG)

*Para **Pedro**, meu filho, que todo esse esforço e dedicação seja motivo de inspiração para o seu crescimento.*

Agradecimentos

A dona **Marilda de Fátima Couto**, minha mãe, que sempre me ajudou nos momentos mais difíceis da minha vida. Devo a ela não só minha existência mais todo o caráter e personalidade que hoje possuo. Sua criação foi impecável e seu amor nunca tem fim. Sem estudos completos mais com muita sabedoria me ensinou o valor dos estudos e nunca me deixou desistir de nada, e como eu pensei em desistir das faculdades e do mestrado, foram tantos problemas que é melhor nem comentar.

Ao meu filho **Pedro Goes Coelho**, que não me deixava dormir na frente do computador durante o mestrado, dizendo – acorda papai, e me batendo no ombro para que eu não dormisse e conseguisse escrever um pouco mais, com todo meu amor passional e incondicional é a pessoa que mais amo no mundo, e que minha vida sirva de exemplo para que ele cresça como um homem bom, justo e honesto.

Para meu orientador, amigo e parceiro, **Dr. Flávio Monteiro Ayres**, que acreditou em mim desde o primeiro contato, teve a paciência de um pai sábio e compreendeu todas as minhas dificuldades durante o curso, orientou como um samurai oriental, nunca me dando as respostas, mas sempre me mostrando o rumo que deveria pesquisar e seguir para chegar ao final com sucesso, espero.

Os meus amigos **Alessandro Aquino Dias, Diego Moraes, Luiz Eduardo Fleury, Marcela Coimbra, Bruna Maria Cunha** e tantos outros que me aguentaram e sempre estiveram ao meu lado me ajudando sempre com espírito de confiança e vitória.

Meu Irmão **André Lopes Coelho**, que sempre acreditou em mim, e também esteve ao meu lado nos momentos ótimos e péssimos da minha vida, minha cunhada **Rafaela Lima** que como toda cunhada me ama mais não vive sem me torturar, e meus sobrinhos que são a alegria da minha vida **Arthur Lima Coelho** e **Átila Lima Coelho**, por quais daria minha vida.

Aos mestres doutores que me ensinaram muito durante esse curso **Prof. Dra. Valdirene Neves Monteiro, Prof. Dra. Claudia Cristina Garcia Martin Didonet, Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino**, e todos que contribuíram para que eu chegasse até aqui, muito obrigado.

“...para que serviria uma raça perfeita de seres humanos, quando a imperfeição é, ela própria, uma das características mais fascinantes da nossa espécie” –Gonçalo Pereira.

Resumo

A metanálise possui o objetivo de correlacionar os polimorfismos de R72P de TP53 com o câncer colorretal, analisando os dados produzidos pelos pesquisadores no mundo. Esta metanálise comparou dados mundiais de 3 continentes América, Europa e Ásia, sendo que os resultados foram comparados mundialmente, e também divididos por continentes. O trabalho contou com um total de 4338 casos de CCR genotipados para o códon *R72P*. Com estudos de todas as partes do mundo e após uma criteriosa revisão sistemática da literatura sobre trabalhos da via p53 na tumorigênese e a análise estatística realizada, conclui-se que os alelos polimórficos que produzem o homocigoto arginina ou o heterocigoto arginina/prolina são considerados os fatores de predisposição para o surgimento de CCR.

Palavras-chaves: câncer colorretal, códon R72P, polimorfismo e *TP53*.

Abstract

The meta-analysis has the objective to correlate the TP53 R72P polymorphism with colorectal cancer analyzing the data produced by researchers in the world. This meta-analysis comparing global data 3 continents America, Europe and Asia, and the results were compared globally, and also divided by continents. The project included a total of 4338 cases of CRC genotyped for codon R72P. Studies from all over the world and after a thorough systematic review of the literature on the track work p53 in tumorigenesis and the statistical analysis, it is concluded that the polymorphic alleles that produce homozygous arginine or arginine heterozygous / proline are considered the predisposing factors for the emergence of CCR.

Keywords:colorectal cancer, codon R72P, polymorphism and *TP53*.

Listas

Lista de Figuras

Figura 01 – Divisão do Intestino Grosso.....	21
Figura 02 – Incidência da origem de câncer colorretal no mundo.....	22
Figura 03 – Mapa de câncer colorretal no Brasil.....	22
Figura 04–Desenvolvimento dos pólipos e invasão dos tecidos adjacentes	23
Figura 05 – Um intestino com a presença de dois pólipos e um carcinoma.....	24
Figura 06 – Locais de desenvolvimento de câncer colorretal.....	25
Figura 07 – Estádios de desenvolvimento do câncer colorretal.....	27
Figura 08 – Microfoto de colônia carcinoide manchado em hematoxilina e eosina.....	27
Figura 09 - Desenvolvimento do adenoma-carcinoma em que a estabilidade das fibras de MEC é violada por meio da ação das MMPs.....	28
Figura 10 – Relação do câncer colorretal com COX-2.....	29
Figura 11 –Esquema simplificado da via de p53.....	35
Figura 12 -Locus do gene <i>TP53</i> no cromossomo 17.....	37
Figura 13 - Fluxograma de identificação dos casos.....	61

Listas de Quadros

Quadro 01 - Estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e número de artigos identificados.....	45
Quadro 02. Teste de relevância tipo I aplicado às referências e resumos dos artigos selecionados nas bases de dados.....	50
Quadro 03. Teste de relevância tipo II aplicado na íntegra aos artigos selecionados no teste de relevância I.....	50
Quadro 04. Roteiro para extração de dados dos artigos incluídos na revisão sistemática da literatura.....	51

Lista de tabelas

Tabela 01 – Demonstrativo dos critérios para desenvolvimento de CCR nos estágios de AJCC e TNM.....	30
Tabela 02 – Dados Complementares dos 17 artigos.....	63
Tabela 03 Participantes com genótipos agrupados por continentes.....	64
Tabela 04 Calculo de Hardy-Weinberg e teste do Qui-quadrado nos pacientes.....	65
Tabela 05 Número de casos e tumores de acordo com seu polimorfismo e sua frequência alélica.....	66
Tabela 06 Calculo do <i>OddsRatio</i> e probabilidade de significância.....	67
Tabela 07 Calculo de OddsRatio com agrupamentos genotípicos RR x RP+PP.....	70
Tabela 08 Calculo de OddsRatio com agrupamentos genotípicos RR + RP x PP.....	71

Lista de gráficos

Gráfico 01 - gráfico exemplo de amostras para metanálise entre caso e controle com uma terapia.....	55
Gráfico 02 - Comparação entre RR e RP, com OddsRatio 0,8597, IC95% = 0,7887-0,9371, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird).....	68
Gráfico 03 - Comparação entre RR e PP, com OddsRatio 0,7947, IC95% = 0,6949-0,9090, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird)	68
Gráfico 04 - Comparação entre PP e RP, com OddsRatio 1,1413, IC95% = 1,0033-1,3038, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird).	69
Gráfico 05 - Comparação entre RR e o agrupamento RP + PP, com OddsRatio 0,8570, IC95% = 0,7061-1,0402, com $p=0,1184$ e Qui-quadrado global de 68,7251 (DerSimonian-Laird)	70
Gráfico 06 - Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,8267, IC95% = 0,6455-1,0582, com $p=0,1315$ e Qui-quadrado global de 50,4647 (DerSimonian-Laird)	71
Gráfico 07 - Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,7674, IC95% = 0,6538-0,9008, com $p=0,0013$ e Qui-quadrado de 10,4074 no continente asiático (DerSimonian-Laird).	72
Gráfico 08 - Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,6995, IC(95%) = 0,4303-1,1371, com $p=0,1494$ e Qui-quadrado de 11,3401 no continente europeu (DerSimonian-Laird)	73
Gráfico 09 - Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 1,2423, IC(95%) = 0,7126-2,1656, com $p=0,4442$ e Qui-quadrado de 7,7010 no continente americano (DerSimonian-Laird)	73

Gráfico 10 - Comparação entre o o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio 0,8079 IC(95%) = 0,7082-0,9214, com p=0,0016 e Qui-quadrado de 9,9079 no continente asiático (DerSimonian-Laird).....	74
Gráfico 11 - Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio 0,7352 IC(95%) = 0,6221-0,8689, com p=0,0004 e Qui-quadrado de 12,7080 no continente europeu (DerSimonian-Laird)	74
Gráfico 12 - Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio 0,9386 IC(95%) = 0,8219-1,0718, com p=0,3663e Qui-quadrado de 0,8162 no continente americano (DerSimonian-Laird).....	75
Gráfico 13 - Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 3,5944 IC(95%) = 2,0976 e 6,1590, com p=0,5772 e Qui-quadrado de 0,3109 na América do Sul (DerSimonianLaird).....	76
Gráfico 14 - Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento RP + PP, com OddsRatio 1,5364 IC(95%) = 1,0863 e 2,1731, com p=0,0189 e Qui-quadrado de 5,5106 na América do Sul (DerSimonian-Laird).	76
Gráfico 15 Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,8149 IC(95%) = 0,7177 e 0,9252, com p=0,6746 e Qui-quadrado de 0,1762 na América do Norte (DerSimonian-Laird)	77

Siglas e Abreviaturas

Arg/Arg	Indivíduo homocigoto para o gene <i>p53</i> , variante arginina
Arg/Pro	Indivíduo heterocigoto para o gene <i>p53</i> , variante arginina e prolina
C	Citosina, base nitrogenada
CCC	Códon para prolina, citosina- citosina- citosina
CGC	Códon para arginina, citosina-guanina- citosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
et al.	et alii, os outros
f	Frequência relativa
G	Guanina, base nitrogenada
HPV	Papiloma Vírus Humano
IC	Intervalo de confiança
IG	Intestino Grosso
INCA	Instituto nacional de câncer do ministério da saúde
LOH	Loss of heterozygosity
MDM2	Proteína de ligação a <i>p53</i> , proto-oncogene
OR	OddsRatio
P	Prolina, aminoácido
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PCR-RFLP	Reação em cadeia da polimerase e polimorfismo de fragmento de restrição
PP	Indivíduo homocigoto para o gene <i>p53</i> , variante prolina
Pro/Pro	Indivíduo homocigoto para o gene <i>p53</i> , variante prolina
p53	proteína <i>p53</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RR	Indivíduo homocigoto para o gene <i>p53</i> , variante arginina
RP	Indivíduo heterocigoto para o gene <i>p53</i> , variante arginina e prolina
SNP	Polimorfismo de um único nucleotídeo
TP53	Gene da proteína <i>p53</i>
χ^2	Qui-quadrado

Sumário

1 - Introdução	16
2 - Referenciais teóricos	19
2.1 - Anatomia do Intestino Grosso	19
2.2 - O câncer colorretal	21
2.2.1 - Sintomas	24
2.2.2 - Sintomas locais	24
2.2.3 - Sintomas de origem metastática	26
2.2.4 - Patologia	27
2.2.5 - Estadiamento	29
2.2.6 - Tratamento	30
2.2.7 - Cirurgia	31
2.3 -Descoberta da p53	34
2.4 -O gene <i>TP53</i>	37
2.4.1 - O polimorfismo do <i>R72P</i> no <i>TP53</i>	38
2.5 - O papel da p53 nas vias de tumorigênese	38
3- Objetivos	42
3.1 – Geral	42
3.2 - Específicos	42
3.2.1 – Metanálise	42
4 - Materiais e Métodos	43
4.1 - Revisão Sistemática	43
4.1.1 - 1ª Etapa – Formulação da pergunta	44
4.1.2 - 2ª Etapa – Localização e seleção dos estudos	44
4.1.3 - Base de Dados	45
4.1.4 - 3ª Etapa –Critérios de seleção	49
4.1.5 - 4ª Etapa –Coleta de dados para a revisão sistemática	49
4.1.6 - 5ª Etapa – Análise e apresentação dos dados	51
4.1.7 - 6ª Etapa – Interpretação dos dados	51
4.1.8 - 7ª Etapa – Aprimoramento e atualização da revisão	52
4.2 –Análise de dados	52
4.2.1 -Interpretando a metanálise	53

4.2.2. - Vantagens.....	57
4.2.3. - Desvantagens.....	58
4.2.4. - Tipo de Pesquisa.....	58
4.2.5. - Banco de dados.....	59
4.2.6 - Avaliação crítica dos estudos.....	59
4.2.7 - Coleta de dados para a metanálise.....	59
4.2.8 - Análise estatística.....	59
5- Resultados.....	61
5.1 – Análise do polimorfismo R72P do gene <i>TP53</i>	61
6 - Discussão.....	78
7-Conclusão.....	82
7.1 – Perspectivas.....	82
8 - Bibliografia.....	83

1 – INTRODUÇÃO

O Câncer Colorretal (CCR) é um tipo de câncer que pode ter várias vias de tumorigênese e o polimorfismo de TP53 do códon 72 pode ser uma delas (Tomlinson, 2012). Denomina-se colorretal por desenvolver-se em todo o Intestino Grosso e Reto. O Intestino Grosso é responsável pela absorção de água utilizada no processo digestivo, transformando os restos alimentares em bolo fecal. O reto é a porção final de todo o tubo digestivo terminando no ânus, que é a cavidade de eliminação de todo excremento. Nele, ficam armazenadas as fezes até que o volume seja ideal para evacuação. A má alimentação e dificuldades na defecação podem ser fatores relativos ao surgimento do CCR. Estudos comprovaram a incidência aumentada em consumidores de álcool e pessoas com ingestão de muita carne vermelha e poucas fibras (Weitzel, 1999).

Porém, o CCR tem o fator genético como principal via de tumorigênese, pois são várias as mutações que podem ocorrer para que as células desenvolvam erros durante suas replicações. Também ocorre a herança de cargas genéticas, que já estão com anomalias as quais podem implicar no surgimento do CCR, como a síndrome de Lynch e a doença de Crohn. Fatores virais como HPV podem também alterar os genes que controlam a estabilidade do DNA durante a duplicação e promover células neoplásicas que podem gerar o tumor (Zhu, 2008).

A via de p53 é um importante fator para o desenvolvimento de CCR e vários códons podem gerar mutações para que a proteína p53 não funcione como programada. Um desses códons é o R72P, que possui um polimorfismo com três genótipos, homocigoto RR, homocigoto PP e heterocigoto RP. Estudar a influência desse polimorfismo no CCR é importante, pois as pesquisas mundiais evoluem muito com a certeza de que um determinado alelo pode ou não ser significativo para o prognóstico de um determinado tipo de câncer. No caso do R72P, vários trabalhos levantaram hipóteses sobre a influência do polimorfismo do códon R72P de TP53, e o trabalho realizado utilizou uma revisão sistemática dos artigos, com relevância criteriosa, para a construção de uma metanálise, e com o objetivo de verificar a relação entre o polimorfismo R72P do gene TP53 e a tumorigênese do CCR (Morikawa 2012).

Nas últimas décadas, os polimorfismos para as variantes da p53, foram estudados com o intuito de relacionar a interferência desses genótipos variados no desenvolvimento do CCR (Zhu et al., 2008). Mais de 200 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) foram identificados por TP53, dos quais 19 são exônico. Onze dos nucleotídeos exônico não sofrem mutação silenciosa, pois não houve uma troca de codificação e os resultados foram obtidos por análises de resíduos dos aminoácidos produzidos (Whibley, 2009).

Uma década atrás, este SNP ganhou atenção quando se verificou que o p53 de tipo selvagem com o resíduo de arginina no códon 72 (R72) é eficientemente degradado pela proteína E6 do papiloma humano vírus (HPV) e que a homozigose de R72 associada ao HPV aumenta o risco do câncer colo de útero (Storey, 1998). Em contraste, a p53 com o resíduo de prolina no códon 72 (p53-P72) está associada com um risco no aumento do câncer de pulmão, esôfago, mama e CCR (Irrázabal, 2003, Zhu, 2008).

O significado do polimorfismo R72P associado ao risco de desenvolvimento do câncer continua inconclusivo, possivelmente, devido às diferenças de grupos étnicos, heterogeneidade genética, número da amostra, tipos de câncer, modalidades de tratamento do câncer de cada investigação e da população (Scheider-Stock, 2004, e Sjölander, 1996)

O estudo baseado em evidências é importante para verificar os pontos de discordância entre os artigos e os métodos utilizados, mostrando os melhores resultados. Sendo de baixo custo orçamentário, pode ser realizada facilmente, com a escolha correta dos artigos, observando a fundamentação teórica e a eficácia dos métodos utilizados nas pesquisas (Morikawa 2012). Podem-se sumarizar os pontos em comum e apontar as fontes de discordância entre estudos que visem responder a importância do polimorfismo da p53(RP72), na supressão do tumor, ou no risco de desenvolvimento do CCR (Chen, 2011).

A meta principal a ser realizada com a formação da metanálise é desenvolver um relatório comparativo e confiável relacionado com o polimorfismo da TP53, pois a prognóstica influência na sobrevida dos pacientes e em todo tratamento realizado

pelas equipes multiprofissionais da saúde depende da agilidade no processo de prevenção e terapia precoce dos pacientes (Farhoud 2002).

2– REFERENCIAIS TEÓRICOS

2.1 – ANATOMIA DO INTESTINO GROSSO

O intestino grosso (IG) pode ser comparado com uma ferradura, aberta para baixo, mede cerca de 6,5 centímetros de diâmetro e 1,5 metros de comprimento. Ele se estende do íleo até o ânus e está fixo à parede posterior do abdômen pelo mesocolo. O IG absorve a água com tanta rapidez que, em cerca de 14 horas, o material alimentar toma a consistência típica do bolo fecal. O IG apresenta algumas diferenças em relação ao intestino delgado: o calibre, as tênias, os haustros e os apêndices epiplóicos. É mais calibroso que o intestino delgado, por isso recebe o nome de intestino grosso. A calibre vai gradativamente afinando conforme vai chegando no canal anal. As tênias do cólon (fitas longitudinais) são três faixas de aproximadamente 1 centímetro de largura e que percorrem o IG em toda sua extensão. São mais evidentes no ceco e no cólon ascendente. Os haustros do cólon (saculações) são abaulamentos ampulares separados por sulcos transversais. Os *apêndices epiplóicos* são pequenos pingentes amarelados constituídos por tecido conjuntivo rico em gordura. Aparecem principalmente no cólon sigmoide (Fatinni, 2012).

O IG é dividido em 4 partes principais: ceco (cécum), cólon (ascendente, transverso, descendente e sigmoide), reto e ânus (Sobotta, 2013).

A primeira é o ceco, segmento de maior calibre, que se comunica com o íleo. Para impedir o refluxo do material proveniente do intestino delgado, existe uma válvula localizada na junção do íleo com o ceco - *válvula ileocecal (iliocólica)*. No fundo do ceco, encontramos o Apêndice Vermiforme. A porção seguinte do IG é o cólon, segmento que se prolonga do ceco até o ânus (Moore, 2014).

Colo Ascendente– é a segunda parte do IG. Passa para cima do lado direito do abdome a partir do ceco para o lobo direito do fígado, onde se curva para a esquerda na flexura direita do colo (flexura hepática), (Netter, 2013).

Colo Transverso – é a parte mais larga e mais móvel do IG. Ele cruza o abdome a partir da flexura direita do colo até a flexura esquerda do colo, onde se curva inferiormente para tornar-se colo descendente. A flexura esquerda do colo

(flexura esplênica), normalmente mais superior, mais aguda e menos móvel do que a flexura direita do colo (Fatinni, 2012).

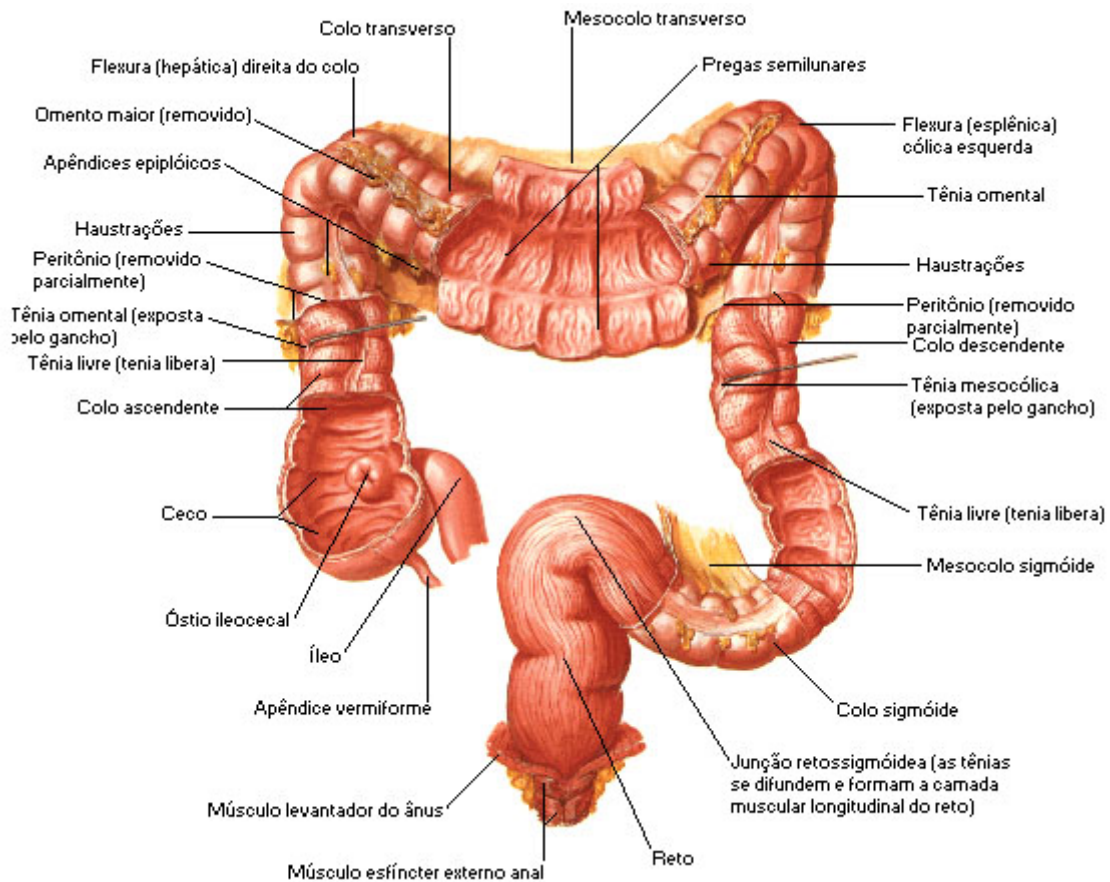
Colo Descendente— passa retroperitonealmente a partir da flexura esquerda do colo para a fossa ilíaca esquerda, onde ele é contínuo com o colo sigmoide (Moore, 2014).

Colo Sigmoide – é caracterizado pela sua alça em forma de “S”, de comprimento variável. O colo sigmoide une o colo descendente ao reto. A terminação das tênias do colo, aproximadamente a 15cm do ânus, indica a junção reto-sigmoide (Sobotta, 2013).

- *Flexura Hepática* - entre o cólon ascendente e o cólon transverso.
- *Flexura Esplênica* - entre o cólon transverso e o cólon descendente.

O reto recebe este nome por ser quase retilíneo. Este segmento do intestino grosso termina ao perfurar o diafragma da pelve (músculos levantadores do ânus) passando a se chamar de canal anal. O canal anal apesar de bastante curto (3 centímetros de comprimento) é importante por apresentar algumas formações essenciais para o funcionamento intestinal, das quais citamos os esfíncteres anais. O esfíncter anal interno é o mais profundo, e resulta de um espessamento de fibras musculares lisas circulares, sendo conseqüentemente involuntário. O esfíncter anal externo é constituído por fibras musculares estriadas que se dispõem circularmente em torno do esfíncter anal interno, sendo este voluntário. Ambos os esfíncteres devem relaxar antes que a defecação possa ocorrer (Figura 01) (Netter, 2013).

Figura 01 – Divisões do Intestino Grosso

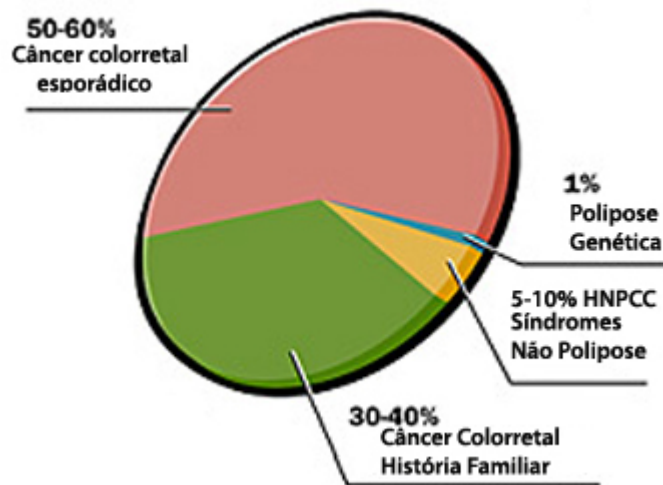


Fonte – Netter, 2000.

2.2 – CÂNCER COLORRETAL

O câncer colorretal (CCR) é uma neoplasia maligna que promove o aparecimento de tumores no intestino e/ou reto, podendo espalhar para outros órgãos e sistemas, diretamente ou através de metástases. Este tipo de câncer é frequente e está associado em geral a sedentarismo, obesidade, tabagismo, história familiar de CCR, predisposição genética, à dieta rica em carnes vermelhas e, possivelmente, à dieta pobre em fibras. Aproximadamente 655 mil pessoas morrem por ano devido a este tipo de câncer, sendo a terceira forma de câncer mais comum e a segunda maior causa de morte no mundo ocidental (Figura 02). (INCA; 2014).

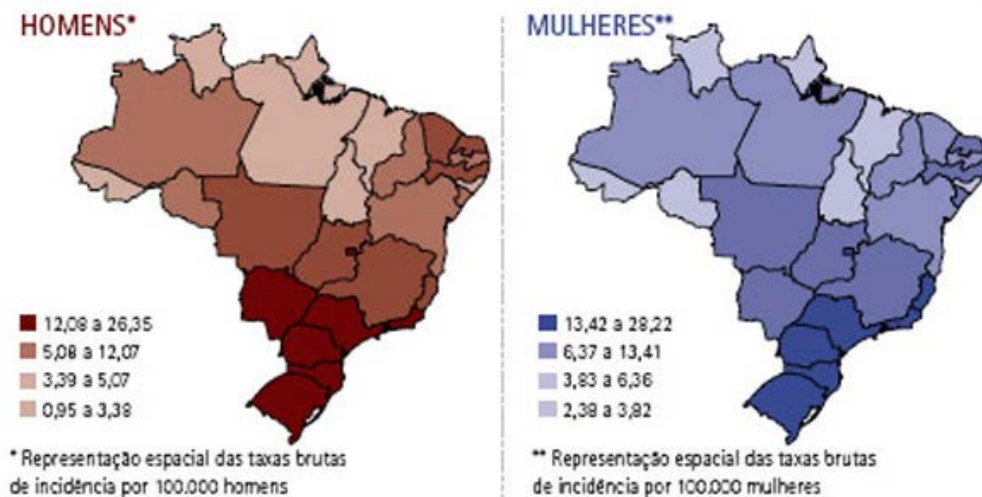
Figura 02 – Incidência da origem de CCR no mundo.



Fonte -INCA 2014.

No Brasil, o ano de 2012, registrou 14,180 novos casos de câncer colorretal em homens e 15,960 em mulheres. Esses valores correspondem a 15 casos novos a cada 100 mil homens e 16 a cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer colorretal em homens é o segundo mais frequente na região Sudeste, e o terceiro na região Sul e Centro-Oeste. No Norte, o CCR ocupa a quarta posição e, no Nordeste, a quinta. Entre as mulheres, o CCR é o segundo mais frequente nas regiões Sudeste e Sul, o terceiro nas regiões Centro-Oeste e Nordeste e o sexto na região Norte. A estimativa para o desenvolvimento de CCR no ano de 2014 para novos casos é de aproximadamente 32,600 novos casos, sendo 15,070 em homens e 17,530 em mulheres (Figura 03)(INCA; 2014).

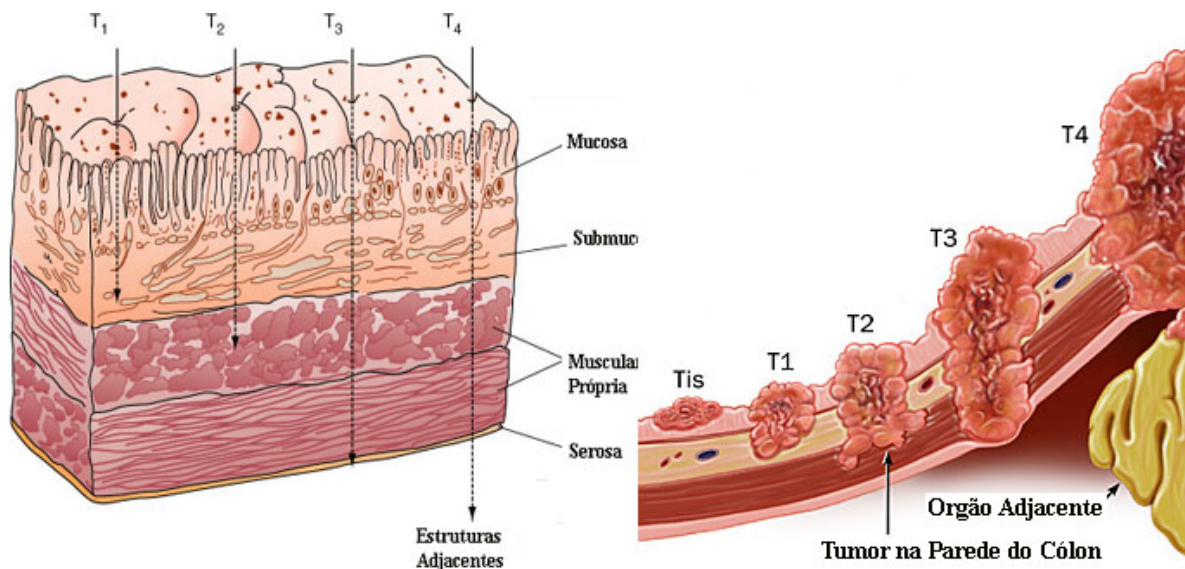
Figura 03 – Mapa do CCR no Brasil.



Fonte – INCA 2014.

Acredita-se que muitos tumores originam-se de pólipos no cólon adenomatosos. Tais pólipos são geralmente benignos, mas podem desenvolver-se em tumores malignos com o tempo. Na maioria das vezes, o diagnóstico de câncer colorretal é feito através de colonoscopia(Figura 04)(Hamilton, 1985.)

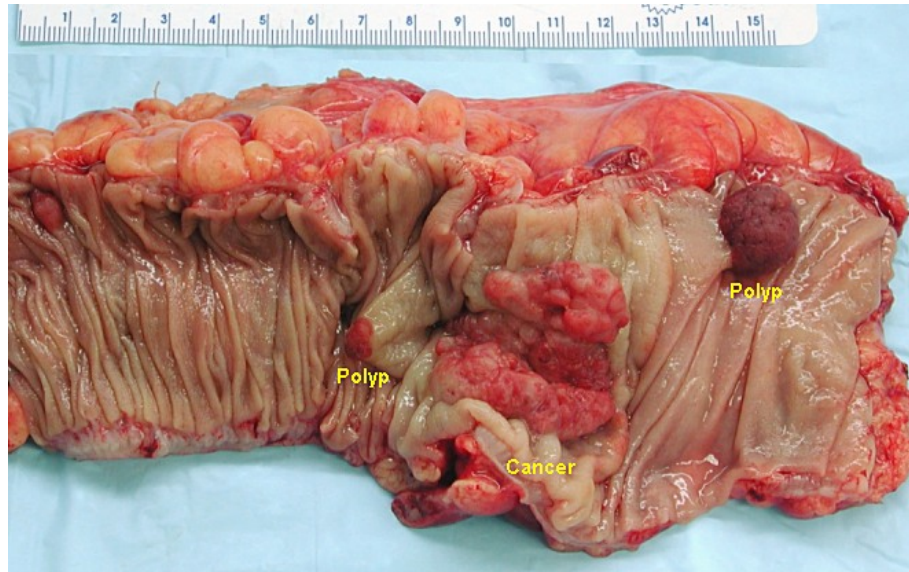
Figura 04 – desenvolvimento dos pólipos e invasão dos tecidos adjacentes.



Fonte - <http://derival.com.br/doencas/doencas-do-colon/cancer-colorretal/>

O tratamento consiste na retirada do tumor, que pode ser endoscópica (colonoscopia) ou cirúrgica. A ressecção endoscópica é realizada nos casos iniciais do câncer, ou seja, naqueles em que não houve o comprometimento mais profundo da parede do intestino. Nos casos cirúrgicos, o segmento intestinal comprometido é ressecado, e o trânsito intestinal reconstruído, sempre que possível. Além disso, pode haver a necessidade de tratamento complementar com quimioterapia e radioterapia, que são indicados antes ou após a cirurgia, e nos casos mais avançados, para que se evitem ou se tratem as lesões metastáticas (Figura 05)(Lewis, 2006).

Figura 05 - Um intestino com a presença de dois pólipos e um carcinoma.



Fonte - http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A2ncer_colorretal#mediaviewer/File:Colon_cancer.jpg

2.2.1- Sintomas

Os sintomas do CCR dependem da localização do tumor no intestino grosso, do tamanho do tumor em si, e se o tumor tem se espalhado para outras partes do corpo. Os sintomas mais comuns do CCR são o sangramento intestinal, a mudança do hábito intestinal e da forma das fezes, a dor e distensões abdominais, emagrecimento e anemia. Como estes sintomas, bem como a maioria dos outros sintomas que podem estar presentes com o câncer, são sintomas de outras doenças (como no caso da hemorroida e da doença diverticular), nenhum dos sintomas apresentados a seguir são específicos de câncer colorretal, e todos devem procurar auxílio médico para fazer um diagnóstico correto dos sintomas (Levin, 1991).

Sintomas podem ser locais (presentes na região afetada pelo tumor primário), gerais (afetando o corpo inteiro), ou metastáticos (causados por metástases)(Levin, 1991).

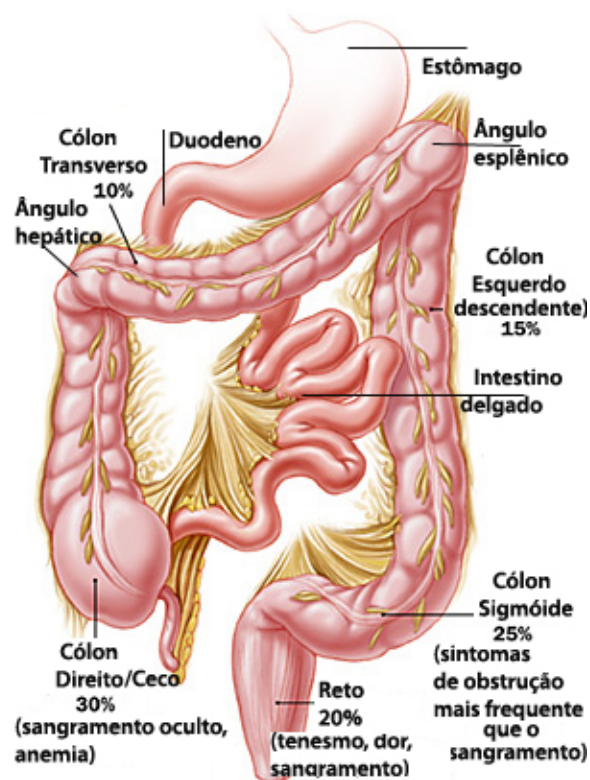
2.2.2- Sintomas locais

Sintomas locais dependem da localização do tumor primário no intestino grosso, sendo mais comuns se o tumor estiver localizado mais próximo ao ânus. Sintomas incluem dor, mudança de hábitos intestinais (tal como diarreia ou

obstipação na ausência de outros possíveis agentes causadores), sensação de defecação incompleta, e mudanças no tamanho e formato das fezes (por exemplo, o diâmetro das fezes pode ser menor que o habitual).(Netter, 2013)

Cancros no cólon ascendente e no cécum tendem a crescer de maneira exofítica, ou seja, da parede intestinal para o exterior do intestino grosso. Por causa disso, tais tumores raramente causam obstrução intestinal, com anemia sendo um sintoma muito mais comum. Por outro lado, cancros no lado esquerdo do sistema colorretal tendem a crescer de maneira circular, envolvendo o intestino, e facilmente causando obstrução intestinal(Figura 06)(Sobotta, 2013).

Figura 06 – Locais de desenvolvimento do CCR.



Fonte - [http://derival.com.br/doencas/doencas-do-colon/cancer-colorretal/#Prevalência docâncercolorretalnossegmentosdocólonenoreto](http://derival.com.br/doencas/doencas-do-colon/cancer-colorretal/#Prevalência%20docâncercolorretalnossegmentosdocólonenoreto).

Hemorragia é um sintoma comum. Presença de sangue nas fezes é um possível indicativo de tumor no sistema digestivo. Se o tumor está presente no reto, um possível sintoma é desconforto na região retal. Se o tumor está localizado no reto ou no cólon descendente, sangue (de cor vermelha clara) e um crescimento da presença de muco nas fezes. Melena, ou seja, fezes de cor escura e cheiro fétido podem estar presentes se o tumor está localizado no cólon transverso ou

ascendente (Fatinni, 2012).

Se o tumor é grande o suficiente para preencher o lúmen do intestino, o tumor pode causar uma obstrução intestinal. Neste caso, sintomas incluem obstipação, dor abdominal, distensão abdominal e vômito, e podem causar, em casos graves, perfuração gastrointestinal e peritonite(Moore, 2014).

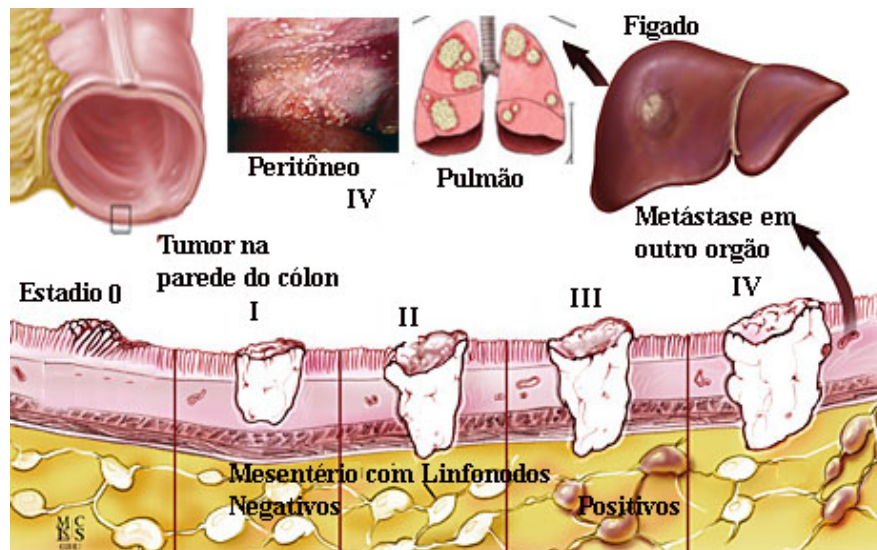
Certos sintomas do CCR aparecem quando a doença avança em severidade. Um tumor grande pode ser mais facilmente notado no abdômen, podendo ser notado em um exame físico (por exemplo, palpação). Com o crescimento do tumor, presença de ar ou sangue na urina é possível (quando o tumor invade a bexiga), bem como secreções anormais na vagina, no caso de invasão do aparelho reprodutor feminino(Parker, 2005).

Se o tumor tem causado hemorragia crônica oculta, uma possível consequência é anemia ferropriva, devido à perda de ferro como consequência da hemorragia. Sintomas devido à anemia incluem fadiga, palpitações e palidez. Outro sintoma é falta de apetite, e conseqüentemente, perda de peso inesperada(Katkoori, 2012).

2.2.3- Sintomas de origem metastática

O órgão mais afetado por metástases do CCR é o fígado. Este é geralmente afetado em estágio avançado do cancro pelo fato de que a circulação venosa do intestino grosso é feita pela veia porta hepática, e passa pelo fígado. Sintomas de metástases no fígado muitas vezes não causam sintomas notáveis(Figura 07). Grandes depósitos metastáticos no fígado podem causar icterícia, dor abdominal (devido ao esticamento das cápsulas fibrosas de Glisson). Se a metástase bloqueia o ducto biliar, a icterícia pode ser acompanhada por outros sintomas de obstrução biliar, tal como esteatorreia (fezes de cor clara) (Weitzel, 1999).

Figura 07 -Estádios de desenvolvimento do CCR e metástase sistêmica.

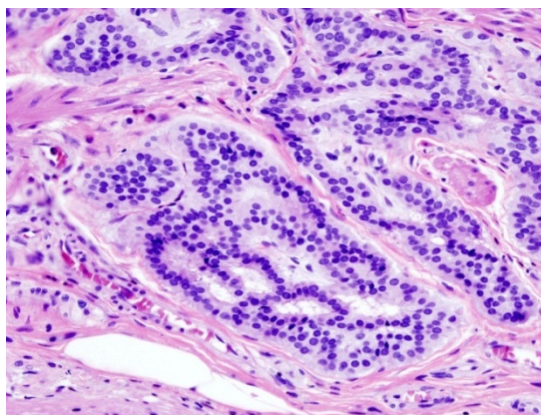


Fonte - <http://derival.com.br/doencas/doencas-do-colon/cancer-colorretal/estadio/>

2.2.4 – Patologia

O tipo do tumor é geralmente diagnosticado através da análise de tecido removido através de uma biópsia ou cirurgia. O diagnóstico patológico geralmente contém a descrição histológica do câncer, e o grau (Figura 08). O tipo mais comum de CCR é adenocarcinoma, que compõe 95% dos casos, acredita-se que a maioria dos casos de CCR envolvam tumores originários de pólipos adenomatosos. Outros tipos, mais raros, de CCR, incluem linfoma e carcinoma espinocelular (ADES, 2009).

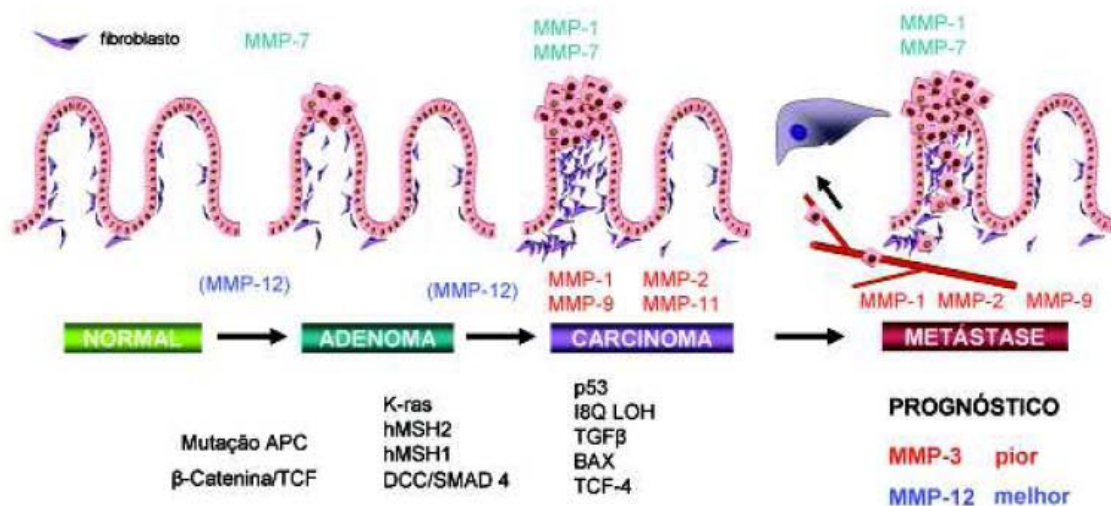
Figura 08 – Microfoto de colônia carcinóide, manchado em hematoxilina e eosina.



Fonte - [http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A2ncer_colorretal#mediaviewer/File:Colonic_carcinoid_\(1\)_Endoscopic_resection.jpg](http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A2ncer_colorretal#mediaviewer/File:Colonic_carcinoid_(1)_Endoscopic_resection.jpg)

Adenocarcinoma é um tipo de tumor maligno epitelial, que se origina do epitélio glandular da mucosa colorretal. Tal tumor invade a parede, infiltrando a mucosa muscular, a submucosa, e as musculaturas próprias. As células do tumor abrigam estruturas tubulares irregulares, de estrutura pluriestratificada, lúmens múltiplos, e estromas reduzidos. Por vezes, as células do tumor secretam muco, que invade o fluido intersticial, produzindo grandes agrupamentos de muco e coloide (que, visualmente, aparecem como "espaços vazios") é o chamado adenocarcinoma colide pouco diferenciado. Se o muco permanece dentro da célula do tumor, o muco empurra onúcleo celular para a periferia da célula (célula do tipo *signet-ring*). Dependendo da arquitetura glandular, pleomorfismo celular, e padrão da secreção de muco, o adenocarcinoma pode ser categorizado em três graus de diferenciação: bem diferenciado, moderadamente diferenciado, e mal diferenciado (Figura 09)(Ionov, 1993).

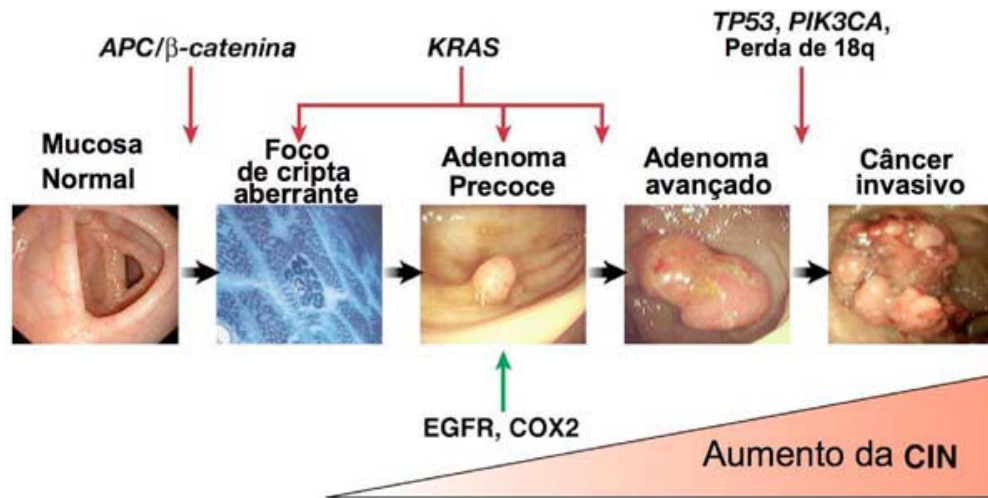
Figura 09 –desenvolvimento do adenoma-carcinoma em que a estabilidades das fibras de MEC é violada por meio da ação das MMPs.



Fonte - Wagennar-Miller, 2004.

Acredita-se que a maioria dos tumores do CCR sejam positivos a COX-2. Esta enzima geralmente não é encontrada em tecido saudável do cólon. Acredita-se que tal enzima alimenta crescimento celular anormal (Figura 10)(Baron, 2005).

Figura 10 – relação do CCR com COX-2.



Fonte –Takayama, 1998, por PINO e Chung, 2010 e readaptado.

2.2.5 - Estadiamento

O estadiamento de CCR é uma estimativa da extensão de penetração de um câncer em particular. É feito por razões de diagnose e pesquisa, e para determinar o melhor método de tratamento. Os sistemas para avaliar cânceres colorretais dependem da extensão da invasão local, o grau de invasão de nódulos linfáticos, e da presença de metástases distantes (Verlag, 2002).

Estadiamento definitivo pode ser somente feito após colectomia. Uma exceção para este princípio seria após uma polictomiocolonoscóica de um pólipó pedunculado maligno, com mínima invasão. Estadiamento pré-operacional de cânceres do reto pode ser feito com ultrassom endoscópico. Estadiamento adjunto de metástases inclui ultrassom abdominal, CT, PET, e outros estudos de imagem (Flossmann, 2007).

O sistema de estadiamento mais comum é a classificação TNM (para tumores, nódulos e metástases), desenvolvida pela *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) (Tabela 01). O sistema TNM possui três categorias, cada uma com números indicando a severidade da extensão do tumor. "T" denota o grau de invasão da parede intestinal, "N" o grau de envolvimento de nódulos linfáticos, e "M" a presença de metástases. Estágios são geralmente descritos em

numerais romanos (I, II, III, IV). Um número maior indica câncer mais avançado, e pior prognóstico (AJCC, 2002)

Tabela 01 – Demonstrativo dos critérios para desenvolvimento de CCR nos estágios de AJCC e TNM.

<u>Estágio (AJCC)</u>	<u>Estágio (TNM)</u>	<u>Critério para Tumores, Nódulos e Metástases de CCR</u>
Estágio 0	Tis N0 M0	Tis: Tumor confinado na mucosa; ou seja, <i>carcinoma in situ</i>
Estágio I	T1 N0 M0	T1: Tumor invade a submucosa
Estágio I	T2 N0 M0	T2: Tumor invade a musculares próprias
Estágio II-A	T3 N0 M0	T3: Tumor invade a subserosa, ou além (sem envolver outros órgãos)
Estágio II-B	T4 N0 M0	T4: Tumor invade órgãos adjacentes, ou perfura o peritônio
Estágio III-A	T1-2 N1 M0	N1: Metástase para um a três nódulos linfáticos. T1 ou T2.
Estágio III-B	T3-4 N1 M0	N1: Metástase para um a três nódulos linfáticos. T3 ou T4.
Estágio III-C	qualquer T, N2 M0	N2: Metástases para quatro ou mais nódulos regionais. Qualquer T.
Estágio IV	qualquer T, qualquer N, M1	M1: Metástases distantes presentes. Qualquer T, qualquer N.

Legenda: TNM (tumores, nódulos e metástases), AJCC(American Joint Committee on Cancer)

Fonte - American Joint Committee on Cancer, 2014.

2.2.6 - Tratamento

O tratamento depende do estadiamento do câncer. O índice de cura de câncer diagnosticado nos estágios iniciais é significativamente maior do que quando detectado em estágio avançado (quando metástases distantes estão presentes). Cirurgia é atualmente o principal método de tratamento curativo do câncer colorretal, enquanto que quimioterapia e/ou radioterapia podem ser recomendados, dependendo do estadiamento do câncer e de outros fatores médicos (Michelone, 2004).

Tratamento agressivo de CCR é muitas vezes um desafio (especialmente após cirurgia), uma vez que a maioria dos pacientes afetados são pessoas mais velhas. Estudos sugerem que tratamento em idosos em boas condições físicas é mais bem-sucedido se quimioterapia adjuvante é utilizada após cirurgia. Por causa disso, idade cronológica não deve ser uma contraindicação para tratamento agressivo, por si só (Maruyama, 2005).

Antígeno carcinoembrionário é uma proteína presente no sangue em virtualmente todos os tumores colorretais (bem como outros tipos de cânceres). A análise dos níveis desta proteína com o tempo, pré e pós-cirurgia, permite monitorar o tratamento do câncer. Altos níveis desta proteína, ou a ausência de uma queda notável no nível desta proteína, pós-cirurgia, são um indicativo de tumor residual ou metástases. Diminuição do nível do antígeno é um indicativo de que o tumor foi removido com relativo sucesso. Um aumento nos níveis do antígeno pós-cirurgia é indicativo de recorrência (Pinho, 2005).

2.2.7 - Cirurgia

Presentemente, cirurgia é o único tratamento curativo usado no tratamento do CCR. Cirurgias podem ser categorizadas em curativo, paliativo, ou de *bypass*. Em cirurgias de caráter curativo, a parte afetada do órgão é removida. Anastomose pode ou não ser possível, dependendo da severidade e da localização do tumor. Se anastomose não é possível, a porção distal do aparelho colorretal é removida (Parker, 2005).

Cirurgias de caráter curativo, segundo Parker (2005), são oferecidas quando:

a) Cânceres em estágios bem iniciais que se desenvolvem dentro de um pólipó podem ser tratados com a remoção do pólipó (através de uma poliectomia) em uma colonoscopia.

b) Um tumor mais avançado tipicamente requer a remoção cirúrgica da secção afetada pelo tumor, bem como tecido aparentemente saudável em torno do tumor (margem de segurança), além da amputação radical do mesentério e nódulos linfáticos locais, para reduzir recorrência local. Se possível, as partes restantes do cólon são ligadas através de uma anastomose, para criar um cólon funcional. Se anastomose não é possível, toda a parte afetada do cólon, bem como a região distal

do aparelho colorretal, é removida, e uma ostomia (um orifício artificial) é criada, via colostomia. Ou seja, mais cólon é removido à medida que a região afetada é mais próxima ao intestino delgado. Por vezes, a região saudável distal do cólon é mantida e suturada (Cirurgia de Hartmann), quando a parte afetada está localizada na região reto-sigmoide do cólon; neste caso, futura anastomose por emissão de positrões é possível.

c) Cirurgia de caráter curativo no câncer retal inclui ou amputação parcial da parte anterior inferior do reto, ou uma amputação abdominoperineal. Dependendo da severidade do cancro, os médicos podem optar por remover apenas a parte afetada, em uma amputação parcial. o restante do reto pode ser conectado com o restante do cólon via anastomose. Se o restante saudável do reto não é suficiente para garantir uma anastomose segura e/ou funcionamento do esfíncter anal, ou se o tumor está próximo ao ânus (dois a cinco centímetros), amputação parcial do reto não é possível, e todo o reto mais a região proximal do cólon sigmoide são amputados via amputação abdominoperineal, e uma colostomia de caráter permanente é realizada.

Se metástases existem, cirurgia de caráter curativo não é uma opção (por ser considerado fútil), no geral. Porém, cirurgia de caráter paliativo pode ser realizada, com o intuito de deixar o paciente mais confortável: a remoção de parte ou todo tumor primário tem o intuito de reduzir a morbidade causada por hemorragia (causado pelo tumor), invasão, e seu efeito catabólico. Porém, no caso de metástases isoladas no fígado, cirurgias de caráter curativo podem ser realizadas, sendo relativamente comuns. Avanços na quimioterapia têm aumentado o número de pacientes que recebem a opção de remover cirurgicamente metástases isoladas no fígado (Ades, 2009).

Se o tumor invadiu estruturas vitais (tornando excisão cirúrgica tecnicamente difícil), cirurgiões podem optar por não remover o tumor, e ao invés disso, criar uma nova passagem para a passagem de fezes, e removendo a parte afetada da parte do restante do sistema digestivo do paciente (mas não removendo tal parte), em uma cirurgia de *bypass*; ou através de uma diversão fecal (colostomia). O intuito de ambos os tipos de cirurgia é comumente paliativo, embora cirurgia de caráter curativo possa ser realizada caso o tumor responda a quimioterapia (Lewis, 2006).

Um último tipo de cirurgia é o "abre-e-fecha", de caráter não-intencional: tal cirurgia acontece quando os cirurgiões descobrem que o tumor não pode ser removido, e quando o intestino delgado foi invadido pelo tumor; neste caso, a continuação da cirurgia causará mais problemas do que benefícios para o paciente. Este tipo de cirurgia é cada vez mais incomum devido à laparoscopia e avanços radiológicos. Casos anteriormente vulneráveis ao "abre-e-fecha" atualmente são frequentemente diagnosticados em avanço, e cirurgia é evitada (Parker, 2005).

Coloectomia assistida por laparoscopia é um procedimento pouco invasivo que pode reduzir o tamanho da incisão e dor pós-operacional.

Como qualquer procedimento cirúrgico, cirurgia colorretal pode resultar em complicações, tais como:

- Infecção nas regiões diretamente afetadas pela cirurgia;
- Hérnia intestinal, e/ou deiscência;
- Hemorragia, com ou sem formação de hematoma;
- Quebra da anastomose, levando a abscesso, formação de fístula, e/ou peritonite;
- Adesões, resultando em obstrução intestinal. Em um estudo de cinco anos, com pacientes que tiveram cirurgia em 1997, 15% dos pacientes foram readmitidos após panproctocolectomia, 9% após colectomia total, e 11% após ileostomia;
- Lesões a órgãos adjacentes, mais comumente, para o intestino delgado, uretras, bexiga e/ou baço;
- Complicações cardiorrespiratórias, tais como infarto do miocárdio, pneumonia, arritmias, embolismo pulmonar, etc.

2.3 – DESCOBERTA DA P53

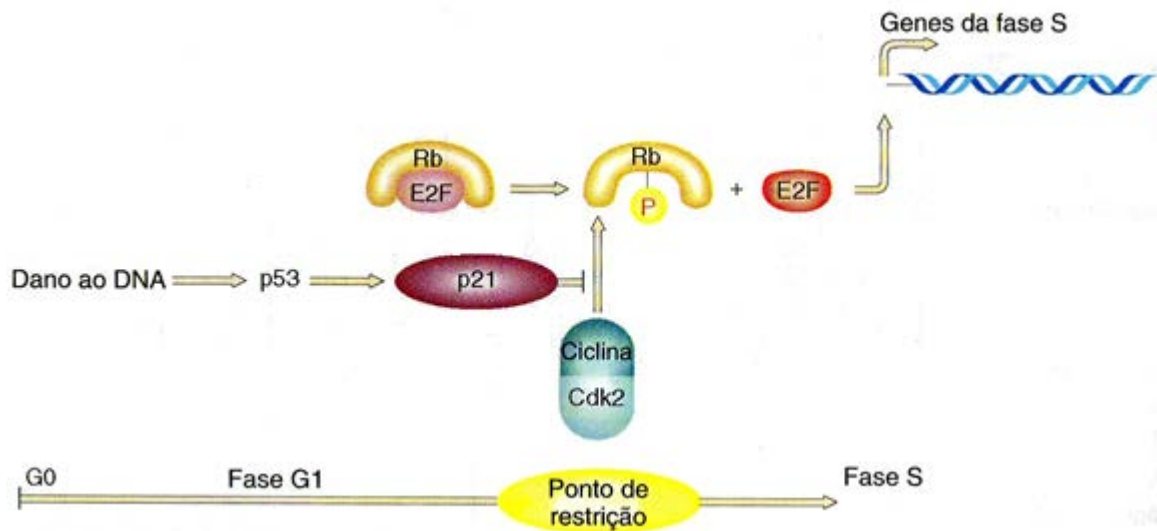
Em 1979, seis grupos independentes de investigadores relataram a descoberta de uma proteína de 53 kDa, em células humanas e de rato, por isso seu nome é p53, p de proteína e 53 graças ao seu peso molecular. (DeLeo, 1979; Kress, 1979; Lane & Crawford, 1979; Linzer e Levine, 1979; Melero, 1979; Smith, 1979). Em cinco destes estudos, a p53 foi co-precipitada com o grande antígeno T de SV40 do vírus do macaco (Kress 1979; Lane & Crawford, 1979; Linzer e Levine, 1979; Melero, 1979; Smith, 1979). A p53 foi descoberta por acaso quando um antissoro gerado contra um sarcoma induzido quimicamente no rato, reagiu com uma proteína de 53 kDa presente nas células tumorais do rato, mas não nas células normais (DeLeo, 1979).

Uma variedade de estudos realizados com a proteína p53, e mais tarde com o gene *TP53*, indicou que era um oncogene (os oncogenes foram caracterizados pela ação dominante que estimula a divisão celular, levando à formação de tumores e contribuindo para o câncer (Pierce, 2011; Hinds, 1984; Pinhasi, 1984). Em contraste, a existência de genes supressores tumorais foi totalmente hipotéticos, e apenas no radar da maioria dos investigadores do câncer. Esta interpretação foi consistente com os elevados níveis de expressão de p53 encontradas em muitos cânceres. Embora houvesse algumas observações experimentais que não se encaixam bem com a ideia de que a p53 era um oncogene, havia pouca razão para acreditar no contrário, em meados dos anos 1980 (Lane & Benchimol, 2014).

Em busca de um gene supressor de tumor possivelmente localizado no cromossomo 17p, uma pequena região que continha p53 entrou em foco. Para excluir formalmente este oncogene até então identificado como supressor de tumor, o teste "de dois golpes" foi aplicado (Knudson, 1971). Genes supressores de tumor agem como os freios em um carro - eles param o crescimento do tumor. Mas porque as células têm duas cópias uniparentais de cada freio, é necessário alterar ambas as cópias de se livrar do freio. Em contraste, os oncogenes mutantes funcionam como aceleradores que são presos ao chão do veículo; apenas um acelerador precisa ser preso para fazer o carro continuar a ir. Esta distinção permite que um teste "de dois golpes" para distinguir se um gene mutante é um oncogene ou um gene supressor de tumores: ambas as cópias do gene devem ser alteradas para que se evidencie

um provável gene supressor de tumores; se apenas uma cópia é alterada, é mais provável que seja um oncogene (Figura 11)(Snedeker, 2010).

Figura 11– Esquema simplificado da via de p53



Fonte – Griffiths, 2002.

Quando este teste foi aplicado a p53, os resultados foram totalmente inesperados. Em primeiro lugar, a maioria dos tumores colorretais foi surpreendentemente afetados pela mutação de substituição, verificou-se que mutações de substituição no gene *TP53*, em geral, uma mutação de sentido trocado por substituição de uma base nitrogenada (Baker, 1989). Mutações como esta em p53 nunca tinham sido observadas antes. Por outro lado, em praticamente em todos os casos de CCR ambas as cópias do p53 foram mutadas. Uma cópia foi geralmente alterada por uma substituição de uma base e a outra cópia foi deletada. Este era o resultado esperado de um gene supressor de tumor, não é um oncogene. Este ensaio "de dois golpes" foi então aplicado a muitos outros tipos de tumores e resultados semelhantes foram encontrados (Nigro, 1989). Este resultado não só catapultou p53 no palco central da pesquisa de tumores humanos, mas também forneceu evidências convincentes de que a p53 era na verdade um gene supressor de tumor. Esta conclusão foi confirmada pelas descobertas posteriores, em pacientes com mutações herdadas de p53 estavam predispostos a diversos tipos de tumores (Malkin, 1990; Srivastava, 1990) e que os ratos "*knock-outs*" do gene p53 também formaram propensos à desenvolver tumor (Donehower, 1992; Lowe, 1993). Estudos posteriores demonstraram que a p53 é mais frequentemente mutada em

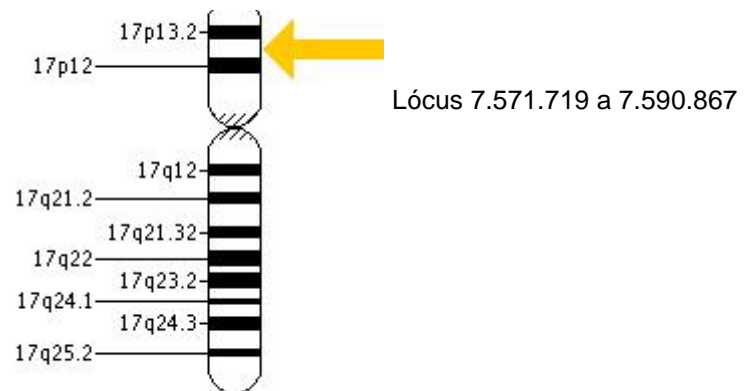
tumores humanos do que qualquer outro gene no genoma, e mais de 25 mil mutações já foram relatadas (Goodsell, 2002).

No caso de tumores esporádicos, as duas mutações aconteceriam no tecido somático como eventos independentes. Este modelo se tornou conhecido como hipótese de Knudson ou hipótese dos “dois golpes”, foi amplamente confirmado em modelos de neoplasias causadas por genes supressores de tumor. Como o primeiro evento é herdado por todas as células no modelo familiar, isto permite que portadores da mutação sejam rastreados pela análise de DNA de qualquer tipo de célula. Uma extensão desta estratégia permite a caracterização do papel de genes supressores também em tumores esporádicos. Como brevemente mencionado acima, polimorfismos presentes no genoma podem ser utilizados como marcadores de heterozigose e identificação de dois alelos polimórficos. O estudo comparativo destes marcadores em amostras tumorais permite identificar áreas de deleção pela perda de um dos alelos, ou perda do estado de heterozigose, *LOH* (Yu, 2001; Ayres, 2006).

2.4 – O GENE *TP53*

O gene *TP53* está localizado no braço curto do cromossomo 17 entre os 7.571.719 e 7.590.867 pares de bases (figura 12). O *TP53* codifica uma proteína supressora de tumores chamada *p53*. A *p53* atua na regulação do ciclo celular, o que permite evitar significativamente a fixação de mutações cromossômicas estruturais e numéricas. Essas mutações, se não forem prevenidas ou reparadas resultam potencialmente em perda do controle proliferativo e início da tumorigênese (Conte, 2002).

Figura 12 – Indicação do locus do gene *TP53* no cromossomo 17.



Fonte: <http://wiki.ggc.usg.edu/wiki/File:TP53.jpg>

A *p53* é uma proteína nuclear que se liga diretamente ao DNA danificado por agentes citotóxicos ou quimiotóxicos e recruta novas proteínas para restaurar a molécula de DNA. Caso não haja a reparação, uma sinalização para o impedimento da progressão do ciclo celular ocorre, ou de apoptose, evitando o desenvolvimento de uma célula tumoral (Tomlinson, 2012)

A proteína *p53* é considerada a “guardiã do genoma” e, dentre todas as proteínas reconhecidamente envolvidos nos processos de carcinogênese, é tido como a de maior importância (Sagne, 2013).

2.4.1 - O polimorfismo R72P do gene *TP53*

Dentre as várias mutações e variações do *TP53*, o polimorfismo mais frequente é o do códon 72, no éxon 4, onde ocorre uma substituição de uma base nitrogenada G por uma base C, transformando o códon CGC em CCC. (Donehower, 2005). Essa mudança resulta na troca do aminoácido prolina por uma arginina, com a produção de estruturas proteicas terciárias e quaternárias diferentes, a partir dos genótipos heterozigoto (Arg/Pro), homozigoto arginina (Arg/Arg) ou homozigoto prolina (Pro/Pro), (Scheider, 2004).

2.5—O PAPEL DA P53 NASVIAS DE TUMORIGÊNESE

A perda de função do gene supressor de tumor p53 é uma das anormalidades genéricas mais estudadas em câncer colorretal. O p53 é um fator transicional que é ativado em situações em que o DNA sofre algum tipo de dano ou, então, em situações em que há perda de sinais regulatórios normais na célula. Quando ativado, a p53 induz uma variedade de respostas que limitam o crescimento celular, tais como parada completa ou parcial do ciclo celular, apoptose, diferenciação e antiangiogênese. A especialidade da resposta depende da natureza do estímulo e do tipo de célula afetada (Morikawa 2012). A função de p53 é exercida por meio da alteração da expressão de diversos genes, dos quais os mais estudados são *p21WAF*, *bax*, *faz* e *KILLER/DR5*, genes com funções muito diferentes e que necessitam de uma rígida regulação, dado o seu papel crucial para o equilíbrio entre sobrevivências e apoptose de célula (Katkooori, 2012).

A inativação de p53 é um fenômeno tardio na carcinogênese do CCR, com exceção de câncer associado à colite. Em até 70% dos casos de câncer colorretal ocorre, inicialmente, a inativação de um alelo de *p53* por mutação, seguida da perda completa do outro alelo. Nos outros casos, a função de *p53* encontra-se obliterada por uma série de mecanismos que não dependem de alterações físicas do gene. Estes incluem a ação descontrolada de inatividades naturais de *p53*, como a proteína MDM2, o silenciamento por meio de metilação tanto do gene *p53* diretamente como também de ativadores de *p53*, como o p14ARF (Joshi, 2011).

Do ponto de vista clínico, a presença de mutações em *p53* pode associar-se a mau prognóstico, menor taxa de sobrevida e doença resistente à quimioterapia em câncer colorretal. Devido à infinitude de funções relacionadas à sobrevivência celular regulada por *p53*, não surpreende o fato de que pacientes que tenham perda da função reguladora de *p53* apresentem doenças mais agressivas e de difícil controle. Por isso, nessa era de tratamento para câncer voltados para alvos moleculares, existe um interesse especial no desenvolvimento de medicamentos capazes de modular *p53* e suas funções, tais como vacinas que atingem células portadoras de *p53* mutantes ou terapias gênicas que visam à restauração do *p53* não-funcionante (Pardini, 2012).

Nossos dados mostram que a *TP53Arg/TP53Arg* está ligada com o aparecimento e desenvolvimento do tumor, e a *TP53Pro/TP53Pro* com o início do CCR. A pesquisa realizada pela Lima analisou o polimorfismo do *TP53* R72P e sua ligação com o CCR no Centro-Oeste do Brasil. Os pacientes envolvidos eram predominantemente do sexo masculino, acima de 60 anos, não fumantes, não alcólatras e homozigotos para Arg72 (Lima, 2011)

Esses dados podem ser comparados com outros trabalhos realizados pelo mundo, pois uma frequência genotípica de variante homozigótica (Pro/Pro) de 21%, que foi significativamente mais elevada em comparação com os grupos controles que foi de 13%. Ao examinar a associação entre genótipos variantes e risco de CCR, o genótipo homozigoto Pro/Pro, mostrou associação com risco significativamente maior a susceptibilidade do CCR. Quando estratificada de acordo com a idade, observou-se que, os indivíduos com idade acima de 50 anos e portadores de genótipo (Pro/Pro) apresentaram um risco maior, com até 33% (Aizat, 2011).

Pesquisa em outras partes do globo também chegou à conclusão de que o homozigoto Pro do gene *TP53* no códon 72 estimulam o desenvolvimento do CCR, e sua associação com os nucleotídeos denominados SNP309, que são polimorfismos em 309 nucleotídeos timina/guanina, no aparecimento de tumores. Os estudos concluíram que a *p53* normal Arg/Pro não está evidenciada sua atividade cancerígena, porém quando ocorre uma associação entre a *p53* Pro/Pro e a SNP 309 o risco de CCR está aumentado consideravelmente (Joshi, 2011).

Na população da Caxemira o Pro é mais influente no desenvolvimento do CCR. O estudo contou com 86 casos de CCR e de 160 pessoas no grupo controle. Os exames foram feitos através da PCR-RFLP, para determinar qual dos dois fatores poderiam aparecer constantemente em pessoas com CCR. As mutações da *TP53* Arg72Pro foi significativamente maior entre o grupo controle e os pacientes de CCR, e a Pro/Pro chegou a 20% na população em geral. Foi encontrada também uma ligação entre a Pro/Pro e a localização do tumor. Como as alterações da Pro47Ser foram insignificantes conclui-se de que o CCR na população da Caxemira está intimamente ligado às alterações que ocorrem na Arg72Pro (Sameer, 2010)

Estudos na Coreia tinham como objetivo específico investigar se o polimorfismo *TP53* R72P está associado com a suscetibilidade individual ao CCR. A frequência do polimorfismo foi examinada em 156 pacientes com CCR e em 293 controles saudáveis. A análise de polimorfismo foi realizada por amplificação do éxon 4 do gene *p53* e separar os produtos com a enzima de restrição. As frequências dos genótipos: Arg/Arg, Arg/Pro e Pro/Pro, foram 34,6% (54/156), 43,0% (67/156) e 22,4% (35/156), respectivamente, nos casos de CCR, e 28,9% (114/293), 47,8% (140/293) e 13,3% (39/293), respectivamente, nos indivíduos saudáveis. Portanto concluíram que no grupo controle não houve estatística significativa, pois foram bem próximas, porém no grupo com CCR a presença do homocigoto Pro/Pro, aumenta as chances consideravelmente do desenvolvimento de tumores (Cao, 2009)

Foi comparado o tratamento de pacientes com quimioterapia no Japão, após serem operados devido aos tumores de CCR, e observou os pacientes quando ao gene *TP53* e seu códon 72. Os seus resultados mostram que os pacientes que possuem a *p53* Arg/Pro não tiveram modificações substanciais com o tratamento pós-cirúrgico, e que eles tinham uma sobrevida maior quando não eram tratados com a quimioterapia, do que os que possuíam a *p53* Pro/Pro, porém foi relatado que os que recebiam a quimioterapia a base de 5-FU foram beneficiados pela Pro/Pro no tratamento pós-cirúrgico (Godai, 2009)

Muitas pesquisas foram feitas sobre o *TP53* e seu polimorfismo, porém nenhum deles avaliou a etnia do paciente, então Katkooi desenvolveu um trabalho sobre a *p53* e os polimorfismos em pacientes com CCR de acordo com a etnia de cada paciente. Foram estudados os grupos africanos separados dos caucasianos

com CCR, na seguinte proporção: 137 afro-americanos e 236 caucasianos não hispânicos. Os resultados foram que o número de mutações é equivalente entre afrodescendentes e caucasianos (50% e 54% respectivamente), porém os norte-americanos afrodescendentes (17%) possui a mutação Pro72 homozigótica maior do que os caucasianos (7%), já os brancos obtiveram resultados como Arg72 homozigota maior do que os afro-americanos (26%, 19% respectivamente). Resultado, os afro-americanos possuem uma sobrevida menor do que os caucasianos com CCR, pois as mutações ocorrem com maior frequência do tipo Pro/Pro (Katkooi, 2009).

O aminoácido Arg também está ligado diretamente no desenvolvimento do CCR, como no Irã, onde uma pesquisa levantou dados sobre o polimorfismo da *TP53Arg/TP53Pro* em pacientes com CCR, para investigar as variações poligênicas da *p53* códon 72 em pacientes com CCR. Foi analisado o sangue de 145 pacientes com CCR e 140 pessoas saudáveis no grupo controle, onde foi realizado um tratamento por nested-PCR do éxon 4 *p53* e separação com enzimas de restrição, logo após o DNA foi manipulado com eletroforese em gel de agarose a 2%. O alelo Pro foi fragmentado em 279 pb e o alelo Arg em dois grupos de 160 e 119 pb. Os resultados nos pacientes foram 49 casos (33,79%) de homozigotos *TP53Arg/TP53Arg*, 78 casos (53,8%) de heterozigotos *TP53Arg/TP53Pro* e 18 casos (12,41%) de homozigotos *TP53Pro/TP53Pro*, portanto eles concluíram que o genótipo *TP53Arg/Arg* aumenta o risco de câncer colorretal no sudoeste do Irã (Doosti, 2011).

A hipótese de que a forma *TP53Arg* é mais favorável ao desenvolvimento do câncer, e seria uma espécie de biomarcador do CCR, está nos estudos com 35 casos realizados na Turquia. Foram realizadas observações dos DNAs tumorais retirados dos pacientes, isolados através da PCR-RFLP e em seguida embebidos na parafina e observados os polimorfismos. Os resultados da análise mostraram 77,1% possuíam resíduos de Arginina, e os genótipos eram 51,9% de *TP53Arg* homozigoto, 40,7% *TP53Arg/TP53Pro* heterozigoto e somente 7,4% *TP53Pro* homozigoto. A conclusão é de que o alelo Arg está diretamente ligado ao aparecimento do CCR (Onrat, 2009).

3 - OBJETIVOS

3.1 - GERAL

Realizar uma Metanálise sobre o polimorfismo *R72P* do gene *TP53* e a tumorigênese do CCR em humanos.

3.2 - ESPECÍFICO

3.2.1 - Metanálise

- Selecionar artigos e identificar evidências robustas do envolvimento do polimorfismo *R72P* do gene *TP53* no risco de CCR;
- Construir uma metanálise que compare os dados mundiais, separar e avaliar os dados por continentes;
- Comparar os resultados entre os continentes.

4– MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – REVISÃO SISTEMÁTICA

A revisão sistemática da literatura constitui um método moderno para a avaliação de um conjunto de dados simultaneamente. Embora possa ser aplicada em varias áreas da Medicina ou Biologia, a revisão sistemática é mais frequentemente utilizada para ser obter provas científicas de intervenções na saúde (Atallah, 2006).

Com o intuito de evitar duplicação de esforços, o Dr. Iain Chalmers, em 1992 (Oxford – Reino Unido), criou a Colaboração Cochrane, cujo objetivo é realizar, auxiliar e disseminar revisões sistemáticas de intervenções em saúde. A colaboração Cochrane (<http://hiru.mcmaster.ca/cochrane>) possui centros que as disponíveis. Em 31 de outubro de 1997, o centro Cochrane do Brasil na Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina foi fundado, e o primeiro a ser credenciado em um país em desenvolvimento. Todo o trabalho da colaboração Cochrane tem sido voluntário e sem fins lucrativos (Atallah, 2006).

A colaboração Cochrane e os Centros Cochrane realizam revisões sistemáticas, auxiliam os interessados a realiza-las e divulgam resultados de revisões sistemáticas. Uma das formas mais requisitadas de divulgação é a “Cochrane Library”, publicação eletrônica editado pela UpDate Software e que contém revisões sistemáticas prontas. Os resumos das revisões encontram-se disponível no website do Centro Cochrane do Brasil (Cochrane, 2013).

A importância dos Centros Cochrane, em virtude de grande impacto provocado tanto na prática médica, quanto nas políticas de saúde e nas definições de prioridades em pesquisas clínicas, tem sido considerado o correspondente clínico do projeto Genoma (Naylor, 1994).

As revisões sistemáticas permitem ao pesquisador concluir sobre protocolos médicos, afim resolver controvérsias em tratamento e determinar terapêuticas que devem ser implementadas. As revisões sistemáticas também identificam áreas nas quais são necessárias realizações de ensaios clínicos controlados, sendo um ponto de referencia cineticamente fundamento para decisão sobre assistência médica e

pesquisa. Por esses motivos, nos países desenvolvidos as atividades de colaboração Cochrane cooperam com os Ministérios da Saúde, agências de fomento a pesquisa, a Organização Mundial da Saúde e as Sociedades Médicas Europeias (Cochrane, 2013).

Uma revisão sistemática preconiza sete etapas para realização, segundo a *Cochrane Handbook*(Castro, 2001).

4.1.1 - 1º etapa - Formulação da pergunta

Assim como qualquer investigação científica, uma pergunta clara e bem formulada resulta em informações precisas nos resultados dos artigos a serem analisados (Azevedo, 2010), portanto nossa pergunta é: **qual a relação entre o genótipo do polimorfismo do códon 72 do gene *TP53* com a tumorigênese do câncer colorretal?**

4.1.2 - 2º etapa - Localização e seleção de estudos

As palavras-chave a serem consultadas nas buscas dos bancos de dados serão: polimorfismo (*polymorphism*), *TP53*, câncer colorretal (*cancer colorectal*), códon *R72P* (*codon R72P*) de acordo com a tabela 01. Essas palavras-chave serão inseridas nas ferramentas de buscas dos seguintes bancos de dados: Medline/Pubmed, NCBI, Embase, Capes, Wos, Scielo, Bireme/BVS, Ibecs, Lilacs, PMC, Wholis e Cochrane (Quadro 01).

Quadro 01 – Estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e número de artigos identificados.

Base de dados	Estratégia de Busca	Nº de artigos identificados
Bireme/BVS	tw:(polymorphismcodon r72p <i>TP53</i> cancercolorectal) AND (instance:"regional"); tw:(polimorfismo câncer colorretal r72p <i>TP53</i>) AND (instance:"regional")	8
Capes	polymorphism+codon+R72P+ <i>TP53</i> +cancer+colorectal&x=39&y=7	34
Cochrane	polymorphismcodon r72p <i>TP53</i> cancercolorectal	0
Embase	polymorphism AND (codon/exp OR codon) AND r72p AND <i>TP53</i> AND (cancer/exp OR cancer) AND colorectal	5
Ibecs	polymorphism AND codon AND r72p AND <i>TP53</i> AND cancer AND colorectal	0
Lilacs	tw:(polimorfismo <i>TP53</i> câncer colorretal) AND db:("LILACS")	2
Medline/Pubmed	("polymorphism, genetic"[MeSH Terms] OR ("polymorphism"[All Fields] AND "genetic"[All Fields]) OR "genetic polymorphism"[All Fields] OR "polymorphism"[All Fields]) AND ("codon"[MeSH Terms] OR "codon"[All Fields]) AND r72p[All Fields] AND <i>TP53</i> [All Fields] AND ("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "cancer"[All Fields]) AND colorectal[All Fields]	6
PMC	("polymorphism, genetic"[MeSH Terms] OR ("polymorphism"[All Fields] AND "genetic"[All Fields]) OR "genetic polymorphism"[All Fields] OR "polymorphism"[All Fields]) AND ("codon"[MeSH Terms] OR "codon"[All Fields]) AND r72p[All Fields] AND <i>TP53</i> [All Fields] AND ("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "cancer"[All Fields]) AND colorectal[All Fields]	33
SciELO	polymorphism AND codon AND r72p AND <i>TP53</i> AND cancer AND colorectal	0
Wholis	polymorphismcodon r72p <i>TP53</i> cancercolorectal	0
Wos	polymorphism and <i>TP53</i> and cancer and colorectal	0
Total		88

4.1.3 - Bancos de dados

Bireme- O Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde, também conhecido pelo seu nome original Biblioteca Regional de Medicina (BIREME), é um centro especializado da Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS), orientado à cooperação

técnica em informação científica em saúde. A sede da BIREME está localizada no Brasil, no campus central da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), desde a sua criação, em 1967, conforme acordo entre a OPAS e o Governo do Brasil (Bireme, 2013).

Capes - O Portal de Periódicos da Capes foi lançado em novembro de 2000 e é uma das maiores bibliotecas virtuais do mundo, reunindo conteúdo científico de alto nível disponível à comunidade acadêmico-científica brasileira. O Portal de Periódicos divulga e dá acesso aos recentes artigos de pesquisadores brasileiros indexados na base Scopus(Capes, 2013).

Cochrane - Coleção de fontes de informação de boa evidência em atenção à saúde, em inglês. Inclui as Revisões Sistemáticas da Colaboração Cochrane, em texto completo, além de ensaios clínicos, estudos de avaliação econômica em saúde, informes de avaliação de tecnologias de saúde e revisões sistemáticas resumidas criticamente (Cochrane, 2013).

Embase – O Embase da *Elsevier Life Science Solutions* é o banco de dados biomédico internacional mais abrangente para pesquisadores biomédicos. Ele permite ao pesquisador acompanhar e recuperar informações precisas sobre drogas e doenças de estudos pré-clínicos para pesquisas em informações toxicológicas críticas. O banco de dados biomédicos do Embase tem mais de 25 milhões de registros indexados a partir de milhares de revistas e jornais. Embase fornece a confiança e as ferramentas necessárias para capturar os mais relevantes de investigação biomédica. Os gestores de informação, especialistas em regulamentação, médicos, bibliotecários médicos, educadores e alunos usam o Embase pela amplitude e profundidade de dados. Embase pode ajudar com tudo, desde os ensaios clínicos de pesquisa à farmacovigilância (Embase, 2013).

Ibecs- É uma base de dados bibliográficos. Fornece referências bibliográficas e resumos de artigos. Emitido pelo Instituto de Salud Carlos III, em colaboração com NLM (Biblioteca Regional de Medicina, OPAS) com um programa chamado LILDBIWEB e seguindo a Metodologia LILACS (Ibecs, 2013).

Lilacs- Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) é uma base de dados Latino-Americana de informação bibliográfica em ciências da saúde. Em termos gerais, abrange toda a literatura relativa às ciências

da saúde, produzida por autores latino-americanos e publicada nos países da região a partir de 1982. São analisados e processados documentos, tais como: teses, capítulos de teses, livros, capítulos de livros, anais de congressos ou conferências, relatórios técnico-científicos, publicações governamentais e artigos extraídos da análise corrente de aproximadamente 400 títulos de periódicos na área (Lilacs, 2013).

Medline - MEDLINE é uma sigla em inglês para Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*) e é a base de dados bibliográficos da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América (*US National Library of Medicine's - NLM*). Contém mais de 25 milhões de referências a artigos de jornais científicos, com maior concentração em biomedicina, mas contém também artigos sobre enfermagem, veterinária, farmacologia, odontologia, entre outros. Uma característica marcante da MEDLINE é que os dados gravados no sistema são indexados com palavras-chave específicas de um sistema chamado MeSH (Medline, 2013).

NCBI - *National Center for Biotechnology Information* (NCBI; em português: Centro Nacional de Informação Biotecnológica) é uma seção da *United States National Library of Medicine* (NLM; em português: Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América), um ramo dos *National Institutes of Health* (em português: Institutos Nacionais de Saúde), com sede em *Bethesda, Maryland*. A instituição foi fundada em 1988, resultado de legislação proposta pelo senador Claude Pepper.

O NCBI alberga dados provenientes da sequenciação de genomas no seu *GenBank* e mantém um índice de artigos de investigação biomédica que disponibiliza nas bases de dados PubMed Central e PubMed. Para além disso, recolhe, trata e disponibiliza múltiplos outros tipos de informação relevante para o desenvolvimento da biotecnologia. Todas as bases de dados estão disponíveis na Internet através do motor de busca *Entrez* (NCBI, 2013).

PMC - PubMed Central (PMC) fica nos EUA e significa *National Institutes of Health (NIH)*, arquivo digital de literatura biomédica e ciências da vida diária. A participação dos editores na PMC é voluntária, embora periódicos participantes devam atender a certos requisitos científicos e normas técnicas. O PMC, em si, não

é uma editora. O acesso ao material do PMC é gratuito, mas o uso do material ainda está sujeito a direitos autorais e/ou termos de licença relacionada aos respectivos autores ou editores (PMC, 2013).

SciELO - *A Scientific Electronic Library Online* (SciELO) é uma biblioteca eletrônica que abrange uma coleção selecionada de periódicos científicos brasileiros. A SciELO é o resultado de um projeto de pesquisa da FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo, em parceria com a Bireme - Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. A partir de 2002, o Projeto conta com o apoio do CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (SciELO, 2013).

Wholis - *World Health Organization Library Information System* (Wholis) - A Biblioteca da OMS é a biblioteca líder mundial em saúde pública. Ela fornece acesso ao conhecimento por parte da OMS, bem como a outras fontes de literatura científica produzidos em todo o mundo. Os recursos e a experiência da Biblioteca OMS também fornecem evidências e conhecimento científico para os países de renda baixa e média por meio de um conjunto de iniciativas de alto uso e baixo custo (Wholis, 2013).

Wos - *Web of Science* (WoS) é uma linha baseada em assinatura científica, citação, indexação e serviço mantidos pela Thomson Reuters, que fornece uma pesquisa abrangente em citação. Ele dá acesso a várias bases de dados que fazem referência à investigação interdisciplinar, o que permite a exploração em profundidade de subcampos especializados dentro de uma disciplina acadêmica ou científica (Wos, 2013).

4.1.4 - 3º etapa –Critérios de seleção

Nessa parte da pesquisa, os critérios de inclusão dos artigos obtidos na consulta aos bancos de dados serão: 1) selecionar artigos entre 1990 e 2013, pois 1990 foi o ano de surgimento dos primeiros artigos referentes a esses estudos; 2) artigos que avaliam o polimorfismo *R72P* do gene *TP53* com o CCR; 3) trabalhos com estudos de caso controle; 4) e detalhes de frequências nos casos controles que podem ser calculados a partir dos artigos. Os critérios de exclusão serão: 1) estudos que não sejam casos tumor/controlado; 2) artigos de revisão bibliográfica; 3) casos que não estejam relacionados com o CCR e o polimorfismo *R72P* da *TP53*; 4) e artigos que não tenham os dados brutos para a construção da metanálise.

Os critérios de inclusão e exclusão aqui mencionados serão os mesmos utilizados para a metanálise.

4.1.5 - 4º etapa - Coleta de dados para a revisão sistemática

Os estudos incluídos na etapa anterior serão submetidos ao teste de relevância tipo 1 (quadro 02) e tipo 2 (quadro 03). O teste tipo 1 considera o *abstract* como fonte de avaliação, e é feito por um avaliador. Já o teste tipo 2 analisa o texto na íntegra, com dois examinadores independentes. Neste trabalho o avaliador 1 foi Anderson Lopes Coelho e o avaliador 2 o Dr. Flávio Monteiro Ayres.

Após a aplicação do teste de relevância tipo 2, os artigos selecionados terão seus dados retirados para inclusão na revisão sistemática e metanálise de acordo com o quadro 04, que foi elaborado pelo pesquisador a partir da proposta de Pereira (2006).

Quadro 02 – Teste de relevância tipo I aplicado às referências e resumos dos artigos selecionados nas bases de dados sobre os artigos selecionados nos bancos de dados em 2014.

Referência do estudo:		
Questões	Sim	Não
1 – O estudo está de acordo com o tema investigado?		
2 – O estudo foi publicado dentro do período estipulado no projeto?		
3 – O estudo foi publicado no idioma estipulado no projeto?		
4 – O Estudo primário envolve diretamente seres humanos como sujeitos?		
5 – O estudo aborda a solução do problema que está sendo investigado?		
O estudo foi incluído? () Sim () Não		
Assinatura do avaliador:		

Fonte – Pereira, 2006.

Quadro 03. Teste de relevância tipo II aplicado na íntegra aos artigos selecionados no teste de relevância I.

Referência do estudo:		
Questões	Sim	Não
1 – O problema de pesquisa está claro?		
2 – Os objetivos do estudo têm relação com a questão que está sendo estudada?		
3 – A metodologia está descrita com clareza e alcança os objetivos?		
4 – Os resultados são compatíveis com a metodologia e merecem credibilidade?		
O estudo foi incluído? () Sim () Não		
Assinatura do avaliador:		

Fonte – Pereira, 2006.

Quadro 04 – Roteiro para extração de dados dos artigos incluídos na revisão sistemática da literatura.

Referencia do estudo:						
1-Grupos: Caso ____ Controle ____						
2-Diagnóstico:						
3-Tipo de tecido coletado:						
4-Métodologia:						
5-Genótipo:	Tumor			Controle		
	Arg/Arg,	Arg/Pro	Pro/Pro	Arg/Arg,	Arg/Pro	Pro/Pro
6-País:						
7-Etnia:	8-Sexo		9-Ano			
	Mas.	Fem.				
10-Observações do avaliador:						

Fonte – Pereira, 2006. Adaptado pelo pesquisador.

4.1.6 - 5º etapa - Análise e apresentação dos dados

Os casos foram agrupados de acordo com o tipo de genótipo.

4.1.7 - 6º etapa - Interpretação dos dados

Desenvolver um resumo crítico, sintetizando as informações disponibilizadas pelos artigos que foram incluídos na revisão e apresentar uma conclusão sobre os resultados do polimorfismo do códon R72P no gene TP53 no câncer de colorretal (Sampaio, 2007).

4.1.8 - 7º etapa - Aprimoramento e atualização da revisão

Com a publicação da revisão, as críticas e sugestões devem ser incorporadas nas edições posteriores, atualizando sempre que surgirem novas pesquisas sobre o tema (Galvão, 2004).

4.2 –ANÁLISE DE DADOS

Após uma revisão sistemática criteriosa, os dados informados na literatura foram lançados no programa BioEstat® 5.0, para efetuar cálculos a serem utilizados na interpretação da metanálise, desde os testes de qui-quadrado até a construção dos gráficos na forma de tipo *forestplot* (Ayres, 2007).

O *forestplot* é uma representação gráfica resultante de revisões sistemáticas quantitativas, cuja abordagem estatística é a metanálise. Essa representação é elaborada de modo a comparar os efeitos de variáveis em estudos quantitativos, especialmente do tipo ensaios clínicos controlados e randomizados. O termo "*forest*" vem da ideia de que o gráfico se assemelha a uma floresta de linhas. Originalmente, o *forestplot* foi elaborado para comparar ensaios clínicos randomizados que abordavam um tema em comum. Atualmente, entretanto, essa representação tem-se mostrado bastante prevalente em estudos observacionais, de modo a apresentar visualmente a significância matemática de achados como *OddsRatio* (resultado de regressões logísticas) ou Risco Relativo (resultado da construção de tabelas de contingência), (Santos, 2013).

Os elementos dos *forestplot* são interpretados conforme as descrições abaixo (Santos, 2013):

- Título: apresenta a característica que está sendo estudada e a comparação dos atributos dessa característica.
- Elementos à esquerda da coluna: apresenta os diferentes estudos encontrados na literatura pesquisada que buscavam identificar o risco de determinada característica (eficiência de um medicamento, risco de desfecho dado um determinado fator de risco, etc...)
- Elementos à direita da coluna: apresenta os valores de risco relativo de

cada estudo, tornando possível a comparação de estudos com características semelhantes e resultados distintos.

➤ Reta horizontal principal (abscissa): apresenta de maneira crescente os riscos relativos comparativos. Dependendo do risco relativo obtido em cada estudo, a caixa representando esse risco estará mais a direita ou mais a esquerda do gráfico.

➤ Reta vertical (Reta vertical principal): normalmente está centralizada no *forestplot* e apresenta o risco relativo 1. Ou seja, é a linha que representa riscos iguais. (risco relativo = 1 significa que as chances de ocorrência no grupo intervenção e controle são as mesmas)

➤ Caixas: representam, ao mesmo tempo, os riscos relativos de cada estudo (deslocamento horizontal no gráfico) como também a importância estatística de cada estudo (tamanho da caixa). Quanto mais à esquerda a caixa se situa no gráfico, maior o risco relativo do estudo. Além disso, quanto maior é a caixa, maior a importância do estudo (número de indivíduos estudados) e, portanto, maior o impacto que esse estudo terá na metanálise.

➤ Linhas horizontais: estão sempre juntas às caixas e representam de maneira bastante visual a largura do intervalo de confiança. Ou seja, quanto maior for o intervalo de confiança (distância entre os limites inferior e superior) maior será a linha que acompanha as caixas. A linha que representa o intervalo de confiança cruzar a reta vertical principal (risco relativo 1), não haverá valor p significativo.

➤ Losango: representa o resultado final da metanálise. Resultado da computação ponderal da análise global de todos os estudos representados no *forestplot*. Quanto maior a caixa que representa o estudo, maior impacto esse estudo terá sobre o losango resultante da metanálise.

4.2.1 - Interpretando a metanálise

A figura 3 é um exemplo de gráfico resultante de uma revisão sistemática com metanálise e é a maneira mais prática de se representar dados de uma metanálise. Cada linha horizontal acima da abscissa representa o intervalo de confiança dos

resultados de um ensaio (Chen, 2011).

Intervalo de confiança é o intervalo no qual as proporções de eventos seriam verificadas em 95% das vezes, se o mesmo estudo fosse retido 100 vezes. Assim, a verificação dos limites inferior e superior do intervalo de confiança permite determinar o resultado máximo e mínimo de uma intervenção comparada com a outra. Portanto, a linha horizontal representa a variação dos dados (Zheng, 2013).

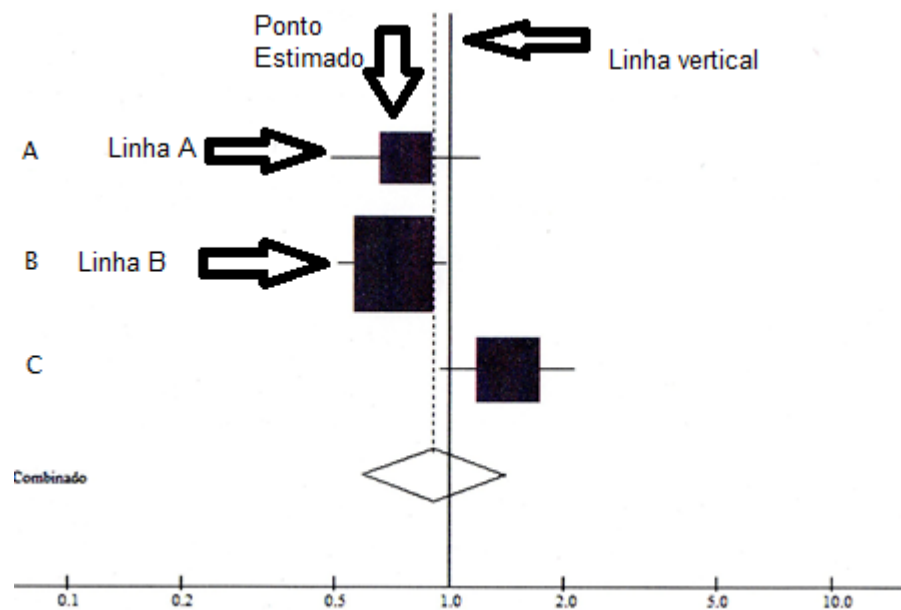
O gráfico é dividido por uma linha vertical que marca o efeito nulo, ou seja, o *oddsratio* ou risco relativo igual a 1. Se a divisão das proporções dos eventos – ponto estimado – no grupo controle e tratado for igual a 1 ou o resultado das diferenças nas proporções – ponto estimado – dos eventos nos dois grupos for igual a zero, significa que o efeito do tratamento foi igual nos grupos tratado e controle (Chen, 2012).

Elementos posicionados a esquerda do eixo vertical representam dados cuja diferença de risco entre o grupo teste e o grupo controle difere estatisticamente. Os elementos à direita representam aumento de risco em um grupo teste, o que quer dizer, por exemplo, que o grupo controle obteve estimativa de risco maior do que o grupo teste (Wang, 2013).

Quando a linha horizontal de dados cruza a linha vertical do losango, significa que o resultado não é estatisticamente significativo, em outras palavras, o acaso pode ser responsável pela diferença encontrada. Sempre que o intervalo de confiança de 95% não ultrapassa a linha vertical, o valor de P (valor médio dos dados apresentados, losango) é menor que 0,05. Além disso, quanto maior o tamanho da amostra e a quantidade de eventos, menor é o intervalo de confiança (Zang, 2014).

Para transformar os valores de *oddsratio* e risco relativo em porcentagem é necessário subtrair o valor de 1, este novo valor é chamado de Redução de Risco Relativo (RRR). Por exemplo, um risco relativo de 0,60 é igual a uma redução de 20% de risco relativo de 0,40 ou 40%; um risco relativo de 1,15 é igual a um RRR de 0,15 ou 15%. Esta redução está relacionada com o grupo onde está situado o valor (Dahabreh, 2010).

Gráfico 01 – gráfico exemplo de amostras para metanálise entre caso e controle com uma terapia inédita.



Nográfico 01, a linha A representa o resultado de um tratamento do qual o efeito não foi estatisticamente significativo ($P > 0,05$), porém mostra uma tendência de redução do risco no grupo submetido ao novo tratamento. O ponto assinalado na reta – ponto estimado – representa uma redução de 38% no número eventos. Observando os limites superior e inferior do intervalo de confiança de 95% do ponto estimado temos 65% a 25%. Que indica que o benefício pode ser 65% a favor do tratamento, ou 25% a favor do grupo controle. Ou seja, com este estudo não teve tamanho suficiente de amostra para detectar a diferença – poder estatístico (Tarasawa, 2014).

A linha B representa o resultado de um estudo com uma redução 50% na proporção de eventos no grupo tratado, estatisticamente significativo, pois o intervalo de confiança de 95% não cruza a linha vertical, conseqüentemente, não inclui o 1. Observando o intervalo de confiança de 95% do ponto estimado máximo 63% a 34%; ele está todo a favor do tratamento. Isto indica que benefício máximo 75% e mínimo 25%. Caso o benefício mínimo de 25% seja clinicamente relevante, o estudo descarta a possibilidade de benefício do grupo controle e mesmo de uma semelhança entre os grupos, ou seja, é um experimento definitivo. Teve tamanho de amostra suficiente para detectar uma diferença clinicamente relevante (Xu, 2014).

Vamos supor que neste mesmo estudo o limite superior do intervalo de

confiança fosse um oddsratio de 0,99%, ou seja, um RRR de 0,01 ou 1% se considerarmos que esta redução não é clinicamente relevante, e realmente não é, apesar do haver uma diferença estaticamente significativa, o estudo não detectou uma diferença relevante, ou seja, o tamanho da amostra é insuficiente (Shen, 2014).

A redução de 20% pode ter um grande impacto quanto às proporções dos eventos, por exemplo, uma redução de 50% para 30%; porem quando as proporções dos eventos são pequenos o impacto não é tão grande, por exemplo, 10% para 9%. Portanto um dos componentes para avaliar o impacto do tratamento é a frequência que os eventos ocorrem, quanto mais frequente mais importante (Li, 2014).

Outra forma de determinar o significado clínico do estudo é converter os valores dos limites do intervalo de confiança para sabermos quantas pessoas devem ser tratadas para evitarmos um evento desfavorável. Por exemplo, se você tiver num mesmo estudo uma proporção de 10% (100/1000) de diferença entre as proporções será de 3%, este valor é ponto estimado, também chamado de Redução de Risco Absoluto (RRA). Observando o intervalo de confiança, 0,5% a 5,4%, percebemos a variação que pode ocorre. Ainda assim, a interpretação não é direta. Porem, se expressamos estes valores através de sua reciproca ($1/0,03 = 34$) descrevemos o número necessário de paciente a serem tratados para prevenir um evento. Para o intervalo de confiança encontramos os valores para prevenir um evento. Para o intervalo de confiança encontramos os valores de 2 a 19 ($1/0,5 = 2$ e $1/0,054 = 19$). De posse destes valores e da frequência da doença é que determinamos, em última análise, a importância clinica do resultado (Lean, 2009).

A linha C representa os resultados de um estudo em que o tratamento aumentou 22% a proporção do evento adverso, entretanto, o resultado não foi estatisticamente significativo. Observando o intervalo de confiança ocorre oposto do estudo A, uma tendência de 22% a favor do controle, e através do intervalo de confiança de 95%, um resultado 80% a favor do controle, e 18% a favor do tratamento. Assim, este estudo não descarta a possibilidade do tratamento experimental envolver maior ou menor risco, pois os grupos controle e teste não tiveram tamanho suficiente para análise de dados (Jiang, 2014).

O losango representa a combinação dos resultados dos três estudos: houve

aproximadamente 24% de redução na proporção dos eventos no grupo tratado (efeito benéfico) que se verificou ser estaticamente significativa, indicando um benefício máximo de 46% e um benefício mínimo de 18%. A linha do total síntese então, a resultante dos três estudos que por serem homogêneas e de boa quantidade foram incluídos na metanálise (Haidich, 2010).

Em resumo, sempre que temos um estudo que não é significativo, a observação dos limites do intervalo de confiança permite determina o benefício significativo, a observação dos limites do intervalo de confiança permite determina o benefício mínimo e máximo de um tratamento em relação ao outro, sendo o benefício mínimo clinicamente relevante, equaciona o problema, caso o benefício mínimo não seja clinicamente relevante, a questão está em aberto, podendo haver uma equivalência entre os dois tratamentos (Dahabreh, 2010).

A metodologia detalhada da realização das revisões sistemáticas e de como fazer a metanálise pode ser encontrada no Cochrane Handbook, presente no CD – ROM da Cochrane Library (Cochrane, 2013).

4.2.2 - Vantagens

Como pode ser visto, esse método de pesquisa, largamente aceito como tese de Doutorado e Livre-docência nas melhores Escolas de Medicina e Saúde, e nas mais rigorosas revistas médicas; a revisão sistemática e metanálise apresentam numerosas vantagens, pois:

- utiliza uma metodologia reproduzível, portanto, científica;
- previne a duplicação desnecessária de esforço, uma vez que quando se completa a revisão ela não precisa ser repetida por outro grupo;
- pode ser rapidamente atualizada, com a inclusão de novos ensaios clínicos publicados; se estes forem de boa qualidade serão incluídos na metanálise;
- detecta tratamento inadequado em estágios mais iniciais de seu uso, portanto, salvando um grande número de paciente de efeitos adversos de tratamentos desnecessários;
- a revisão aumenta a precisão dos resultados, o intervalo de confiança se estreita;

- define em que áreas mais ensaios clínicos são necessários;
- economiza recursos em pesquisas clínicas;
- economiza recursos em assistência médica;
- auxilia decisões pra políticas de saúde.

4.2.3 - Desvantagens

As desvantagens são varias e são descritas a seguir:

- consome tempo, como em qualquer pesquisa científica de boa qualidade, pois uma revisão sistemática leva não menos que 3 meses nas mão de pessoas experientes, podendo chegar até a 1 ano;
- envolve trabalho intelectual intenso para a formulação da pergunta, desenvolvimento da estratégia para pesquisa, comparação dos trabalhos, interpretação dos dados, e o trabalho braçal na cópia de artigos e na realização dos resumos estruturados;
- nãoconsegue melhoras diretamente a qualidade dos estudos que compõem a revisão sistemática, pode apenas alertar para que os novos estudos não cometam os mesmos erros, e promove sistematicamente a melhoria da qualidade dos estudos a serem desenvolvidos;
- é praticamente impossível, fazer uma revisão sistemática sozinha, pois são necessários pelo menos dois profissionais pra avaliar os ensaios clínicos;
- aprender a trabalhar em equipe, espirito colaborativo, e “negociar” opiniões, além das evidencias. O que, embora, não seja sempre fácil, trabalhar em equipe é uma habilidade fundamental a ser desenvolvida pelos profissionais da área a saúde.

4.2.4 - Tipo de pesquisa

A investigação quantitativa utiliza coleta de dados e análises para referenciar as hipóteses estabelecidas previamente, com dados numéricos e estatísticos, para o levantamento dos resultados finais(Sampiere, 2006).

4.2.5 - Banco de dados

Analisar os resultados obtidos nos artigos selecionados nos bancos de dados do Medline/Pubmed, NCBI, Embase, Capes, Wos, Scielo, Bireme/BVS, Ibecs, Lilacs, PMC, Wholis e Cochrane, que relacionaram polimorfismos R72P do *TP53* com o CCR.

4.2.6 - Avaliação crítica dos estudos

A avaliação crítica dos estudos com os critérios de inclusão e exclusão já foram apresentados e discutidos na revisão sistemática.

4.2.7 - Coleta de dados para a metanálise

Os dados relevantes à construção da metanálise serão coletados incluindo: quantidade de casos e grupo controle, o tipo de tecido utilizado no diagnóstico, como sangue ou biópsia de tumor, os genótipos encontrados nos casos controle e tumor Arg/Arg, Arg/Pro ou Pro/Pro, país onde o estudo foi realizado, ano de publicação, gênero, etnia, idade e o método utilizado para o sequenciamento genético RFLP e PCR (Koch, 2008).

4.2.8 - Análise estatística

O programa BioEstat® 5.0 foi utilizado para transformar os resultados obtidos nos estudos dos artigos em agrupamentos com medidas comuns, e definir os testes que serão mais eficazes na construção da metanálise. Os testes de Heterogeneidade do X^2 , e nos casos de homogeneidade usar o DerSimonian-Laird (efeito randômico), e Mantel-Haenszel (efeito fixo) serão os mais utilizados, porém usar outros caso haja necessidade (Silva, 2009)

Verificar a homogeneidade dos resultados com a frequência relativa dos genótipos Arg/Arg, Arg/Pro e Pro/Pro no câncer de colorretal. Moldar a variação entre os estudos a partir dos resultados dos genótipos construindo gráfico, considerar os efeitos randômicos e fixos, calcular as *OddsRatios*, considerar os pesos de cada estudo e gerar a estimativa de efeito em conjunto (Mealiffeet

al.,2010)

Testar a frequência dos casos controles para verificar se estão em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* e realizar uma conclusão com análise dos dados gerados nos gráficos de desenvolvimento do câncer de colorretal e comparar com os gráficos de variação dos genótipos Arg/Arg, Arg/Pro e Pro/Pro (Theodoratou *et al.*, 2012).

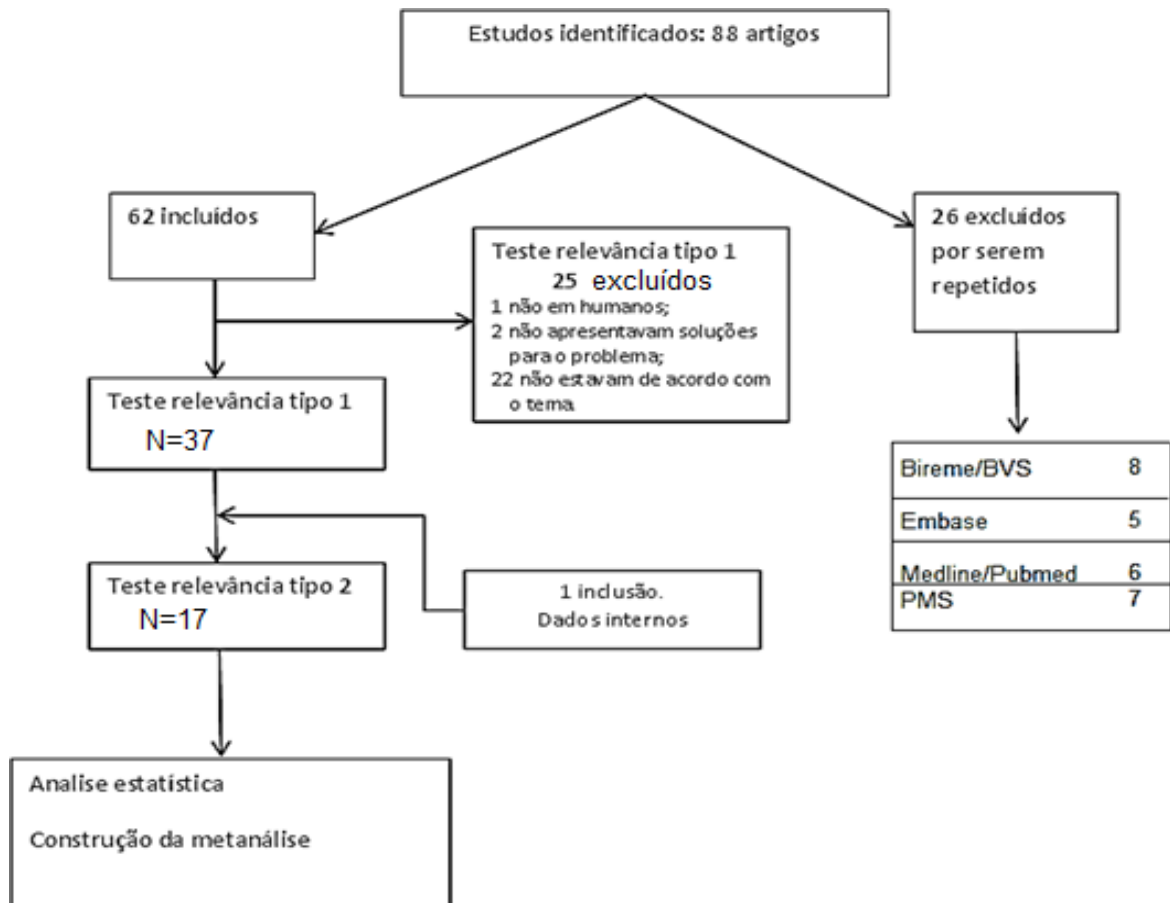
Como o agrupamento dos estudos selecionados para realização da metanálise foram homogêneos e ficaram dentro dos padrões normais com *OddsRatios* superior a 95% de confiança, e todos em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, exceto o artigo do Dastyerdi 2009 que sai do equilíbrio, porém a probabilidade resultou em menor que 1, o estudo foi incluindo, portanto foi utilizado o teste de *DerSimonian-Laird* para todas as possibilidades genóticas: Arg/Arg, Arg/Pro e Pro/Pro. No trabalho também foi realizado a comparação entre as possíveis dominâncias Arg/Arg e Arg/Pro contra Pro/Pro, e Arg/Arg contra Arg/Pro e Pro/Pro, e essa mesma estratégia foi utilizada para verificar a influencia genotípica por continentes, separando os trabalhos em América (5 estudos), Europa (5 estudos) e Ásia (7 estudos).

5– RESULTADOS

5.1 –ANÁLISE DO POLIMORFISMO R72PDO GENE *TP53*

Após os testes de relevância I e II, 17 estudos foram selecionados para a realização da metanálise,. Os estudos foram conduzidos em 3 continentes (Ásia, Europa e Américas), e somam o total de 4.338 casos e 6.261 no grupo controle. (figura 03)

Figura 13 – Fluxograma de identificação dos casos.



Os estudos foram organizados pelo ano de publicação, abrangendo artigos de 1995 até 2011. Nos artigos de Scheider(2004), Pérez (2005), Sammer(2010) e Lima (2011), o tecido tumoral foi utilizado para genotipagem e o sangue como tecido utilizado no grupo controle, os outros autores utilizaram sangue para ambos os grupos.

Obtivemos 4.338 casos, que apresentaram 1.895(43,40%) genótipos R/R,

1.876(43,38%) genótipos R/P e 566(13,22%) genótipos P/P. No grupo controle, os 6.261 indivíduos observados tiveram 3.021 (48,1%) R/R, 2.570 (41,1%) R/P e 670(10,8%) P/P.

Tabela 02 –Dados complementares dos 17 artigos

Referencia	Ano	Caso	Controle	Diagnóstico	Tecido coletado	Genótipo Tumor			Genótipo Controle			Sexo Caso		Etnia	País
						Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	M	F		
Sotamma	2005	323	702	CCR	Sangue	172	125	26	403	254	45				Finlândia
Sjalander	1995	155	206	CCR	Sangue	72	62	21	109	72	25				Finlândia
Talseth	2006	86	160	CCR	Sangue	10	37	39	65	63	32	49	37		Polônia
Gemignani	2004	352	316	CCR	Sangue	201	133	18	202	95	19				Espanha
Schneider	2004	83	85	CCR	Sangue/Tumor	38	37	8	39	40	6				Alemanha
Lima	2006	100	100	CCR	Sangue	56	38	6	58	36	6	53	47		Brasil
Lima	2011	80	144	CCR	Sangue/Tumor	61	17	2	86	40	18				Brasil
Koushik	2006	856	1184	CCR	Sangue	452	346	58	669	447	68	359	497		USA
Koushik	2006	442	904	CCR	Sangue	228	186	28	498	351	55	255	187		USA
Pérez	2005	53	109	CCR	Sangue/Tumor	31	20	2	44	53	12				USA
Zhu	2006	345	670	CCR	Sangue	83	175	87	243	320	107				Argentina
Murata	1996	115	152	CCR	Sangue	46	54	14	51	76	25				China
Joshi	2010	685	778	CCR	Sangue	239	342	104	310	361	107	457	228		Japão
Sammer	2010	86	160	CCR	Sangue/Tumor	10	37	39	65	63	32	49	37		Japão
Aizat	2011	202	201	CCR	Sangue	70	88	44	75	101	25	113	89		Índia
Doosti	2011	125	140	CCR	Sangue	29	78	18	28	85	27	77	68		Malásia
Dastyerdi	2009	250	250	CCR	Sangue	97	101	52	76	113	61	146	104		Irã
Total		4338	6261			1895	1876	566	3021	2570	670	1558	1294		

No grupo caso e no grupo controle, a distribuição dos genótipos foi heterogênea entre os 3 continentes investigados (Tabela 03).

Tabela 03 – Participantes com genótipos agrupados por continentes.

Continente	Casos			Controle			
	Genótipos	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro
Ásia		574	875	358	848	1119	384
Europa		493	394	112	818	524	127
Ámerica		828	607	96	1355	927	159
Total		1895	1876	566	3021	2570	670

Os resultados para os teste de EHW e o teste χ^2 em casos estão descritos na tabela 03, e estão de acordo com trabalho e as referências, e o equilíbrio alcançado revela a homogeneidade dos estudos, pois todos os casos estão em equilíbrio populacional pelo teste de EHW e o χ^2 é $\geq 0,05$ (Tabela 04)

Tabela 04 – calculo de Hardy-Weinberg e teste do Qui-quadrado nos pacientes.

Autor	ano	Arg/Arg		Arg/Pro		Pro/Pro	
		dado	esperado	dado	esperado	dado	esperado
01-Sjalander et.al	1995	72	68	62	69	21	17
02-Murataet.al	1996	46	46	54	52	14	14
03-Gemignaniet.al	2004	201	203	133	128	18	20
04-Schneideret.al	2004	38	38	37	36	8	8
05-Pèrezet.al	2005	31	31	20	18	2	71
06-Sotammaet.al	2005	172	170	125	128	26	24
07-Koushiket.al	2006	452	456	346	337	58	62
08-Koushiket.al	2006	228	233	186	175	28	33
09-Talsethet.al	2006	10	9	37	38	39	38
10-Zhuet.al	2006	83	84	175	172	87	88
11-Dastyerdiet.al	2009	97	87	101	120	52	42
12-Joshiet.al	2010	239	245	342	329	104	110
13-Sammeret.al	2010	10	94	37	38	39	38
14-Aizatet.al	2011	70	64	88	99	44	38
15-Doostiet.al	2011	29	36	78	62	18	25
16-Limaet.al	2011	61	60	17	18	2	1
17-Limaet.al	2006	56	58	38	36	6	6
Total		1.895	1.982	1.876	1.855	566	635

Tabela 05 – Número de casos e tumores de acordo com o polimorfismo e a frequência alélica.

Referencia	Ano	Genótipo Tumor						Genótipo Controle					
		Arg/Arg	f	Arg/Pro	f	Pro/Pro	f	Arg/Arg	f	Arg/Pro	f	Pro/Pro	f
01-Sjalander	1995	72	0.46	62	0.41	21	0.13	109	0.53	72	0.35	25	0.12
02-Murata	1996	46	0.40	54	0.48	14	0.12	51	0.34	76	0.50	25	0.16
03-Gemignani	2004	201	0.57	133	0.38	18	0.05	202	0.64	95	0.30	19	0.06
04-Schneider	2004	38	0.45	37	0.44	8	0.11	39	0.46	40	0.47	6	0.07
05-Pérez	2005	31	0.58	20	0.38	2	0.04	44	0.40	53	0.48	12	0.12
06-Sotamma	2005	172	0.53	125	0.38	26	0.09	403	0.57	254	0.36	45	0.07
07-Koushik	2006	452	0.52	346	0.4	58	0.08	669	0.56	447	0.37	68	0.07
08-Koushik	2006	228	0.52	186	0.42	28	0.06	498	0.55	351	0.40	55	0.05
09-Talseth	2006	10	0.11	37	0.43	39	0.46	65	0.40	63	0.39	32	0.21
10-Zhu	2006	83	0.24	175	0.50	87	0.26	243	0.36	320	0.48	107	0.16
11-Dastyerdi	2009	97	0.39	101	0.40	52	0.21	76	0.30	113	0.45	61	0.25
12-Joshi	2010	239	0.35	342	0.50	104	0.15	310	0.40	361	0.46	107	0.14
13-Sammer	2010	10	0.11	37	0.43	39	0.46	65	0.40	63	0.39	32	0.21
14-Aizat	2011	70	0.34	88	0.43	44	0.23	75	0.37	101	0.50	25	0.13
15-Doosti	2011	29	0.23	78	0.62	18	0.15	28	0.20	85	0.60	27	0.20
16-Lima	2011	61	0.76	17	0.21	2	0.03	86	0.60	40	0.27	18	0.13
17-Lima	2006	56	0.56	38	0.38	6	0.06	58	0.58	36	0.36	6	0.06

Onde f = frequência em porcentagem que os alelos aparecem em cada estudo.

Os dados de cada artigo foram comparados com os polimorfismos de *TP53* estudados, como Arg/Arg, Arg/Pro e Pro/Pro, para melhor exemplificar na tabela os alelos polimórficos serão representados pelos símbolos do seu genótipo, assim a homozigoto arginina (Arg/Arg) será identificado por RR, o heterozigoto arginina/prolina (Arg/Pro) de RP e o homozigoto prolina (Pro/Pro) de PP.

A tabela 06 mostra as comparações simples entres os polimorfismos com os resultados obtidos pelo teste de *DerSimonian-Laird* com o OddsRatios (OR) para cada estudo, onde todas as variâncias de confiança estão no intervalo de 95% e as probabilidades de significância entre RR x RP, RR x PP e PP x RP.

Tabela 06: calculo do *OddsRatio* e probabilidade de significância

Referencia	Ano	Genótipo Tumor			Genótipo Controle			RR x RP		RR x PP		PP x RP	
		RR	RP	PP	RR	RP	PP	OR	<i>p</i>	OR	<i>p</i>	OR	<i>p</i>
01-Sjalander	1995	72	62	21	109	72	25	0.7670	0.0597	9.5240	0.2086	0.9750	0.2293
02-Murata	1996	46	54	14	51	76	25	1.2690	0.1568	1.6110	0.8407	0.7880	0.0065
03-Gemignani	2004	201	133	18	202	95	19	0.7110	0.0969	1.0500	0.5613	0.6770	0.6675
04-Schneider	2004	38	37	8	39	40	6	1.0530	0.1979	0.7310	0.9999	1.4410	0.0055
05-Pérez	2005	31	20	2	44	53	12	1.8670	0.2882	4.2270	0.9999	0.4420	0.0135
06-Sotamma	2005	172	125	26	403	254	45	0.9030	0.0961	0.7390	0.6744	1.1740	0.0054
07-Koushik	2006	452	346	58	669	447	68	0.8730	0.0533	0.7920	0.4883	1.1020	0.7524
08-Koushik	2006	228	186	28	498	351	55	0.8640	0.0471	0.8990	0.2809	0.9610	0.0115
09-Talseth	2006	10	37	39	65	63	32	0.2620	0.1815	0.1260	0.8089	2.0750	0.0064
10-Zhu	2006	83	175	87	243	320	107	0.6250	0.0832	0.4200	0.0036	1.4870	0.2717
11-Dastyerdi	2009	97	101	52	76	113	61	1.4280	0.0032	1.4970	0.0091	0.9540	0.0399
12-Joshi	2010	239	342	104	310	361	107	0.8140	0.0386	0.7930	0.0093	1.0260	0.0999
13-Sammer	2010	10	37	39	65	63	32	0.2620	0.1815	0.1260	0.8089	2.0750	0.0064
14-Aizat	2011	70	88	44	75	101	25	1.0710	0.0291	0.5300	0.1154	2.0200	0.6207
15-Doosti	2011	29	78	18	28	85	27	1.1290	0.0025	1.5540	0.0066	0.7260	0.8816
16-Lima	2011	61	17	2	86	40	18	1.6690	0.2707	6.3840	0.6137	0.2610	0.6097
17-Lima	2006	56	38	6	58	36	6	1.0510	0.0250	1.500	0.0060	2.002	0.0060
Combinado		1895	1876	566	3021	2570	670	0.8597	0.1116	0.7947	0.4643	1.1437	0.2642

OR: *oddsratio*; *p*: Probabilidade de significância.

Os gráficos gerados pelo programa Biostat 5.0 para metanálise são do tipo *forestplot*. Neste tipo de gráfico cada estudo é representado por uma linha, sendo que a última adquire o formato de um losango que representa a combinação de todos os resultados. Cada estudo recebe na sua linha numérica um gráfico em forma de um quadrado central, que representa o risco de relativo, quanto maior o quadrado mais peso e significância possui o estudo para a formação dos resultados, e a linha é o intervalo de confiança (IC), quanto menor o IC e mais próximo ele estiver da nulidade (posição 1,0 no gráfico), mais importância possui o estudo (Berwanger, 2007).

Para cada análise dos genótipos em grupos, foi gerado um gráfico *forestplot* como resultado das combinações do *OddsRatios* e os intervalos de confiança (IC).

Gráfico 02: Comparação entre RR e RP, com OddsRatio 0,8597, IC95% = 0,7887-0,9371, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird).

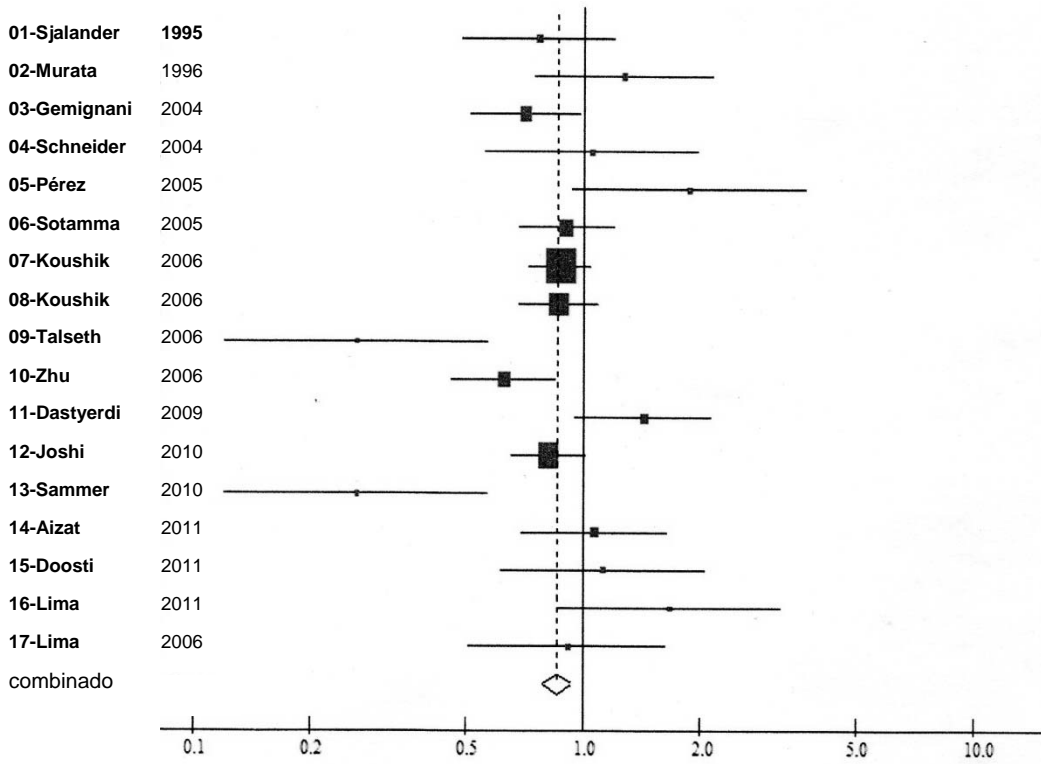


Gráfico 03: Comparação entre RR e PP, com OddsRatio 0,7947, IC95% = 0,6949-0,9090, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird).

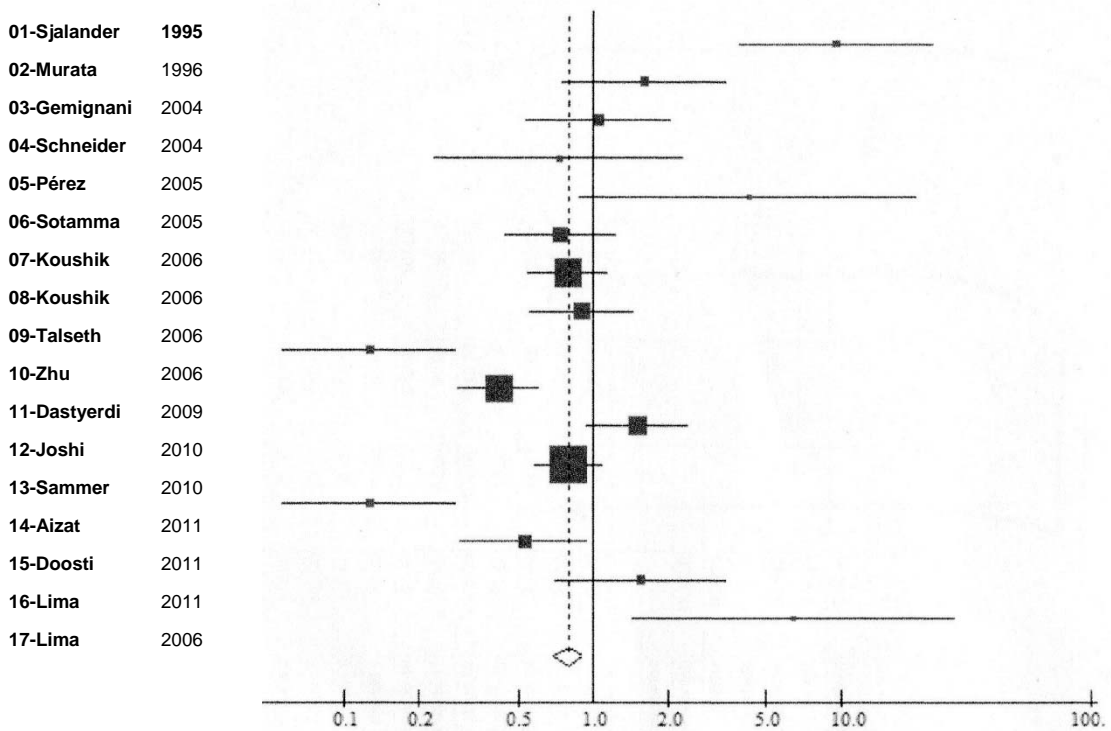
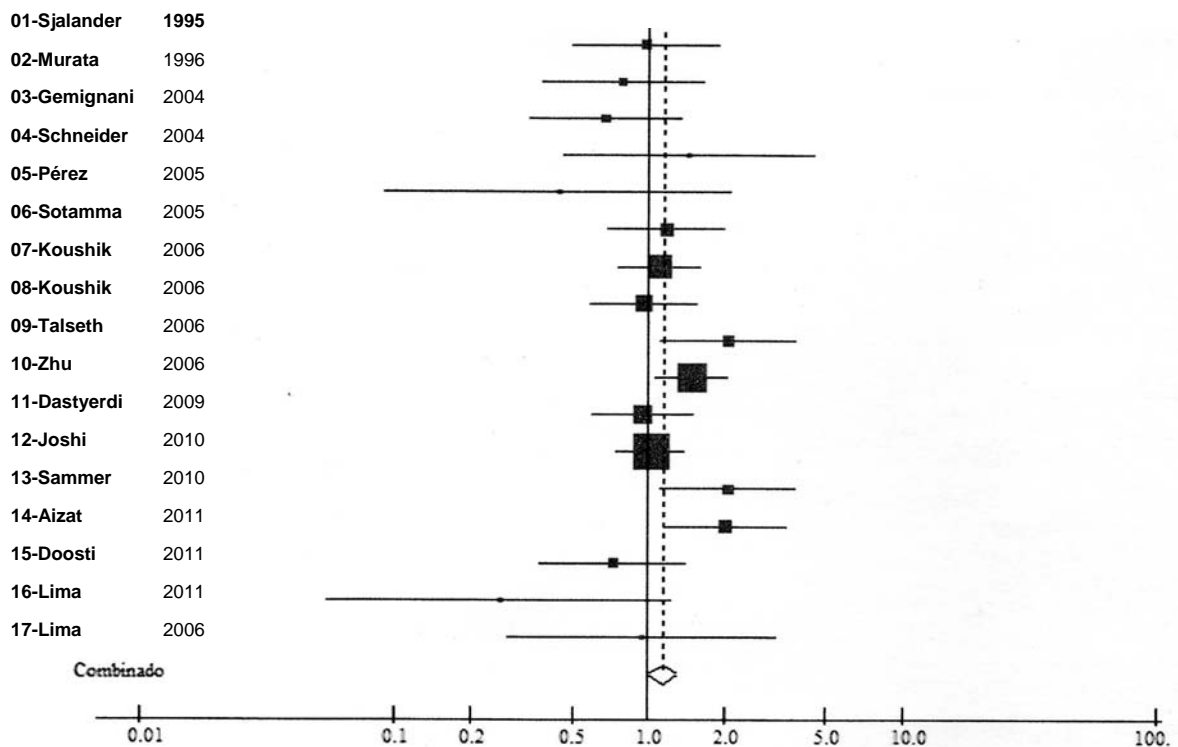


Gráfico 04: Comparação entre PP e RP, com OddsRatio 1,1413, IC95% = 1,0033-1,3038, para o estudo do teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativo (DerSimonian-Laird).



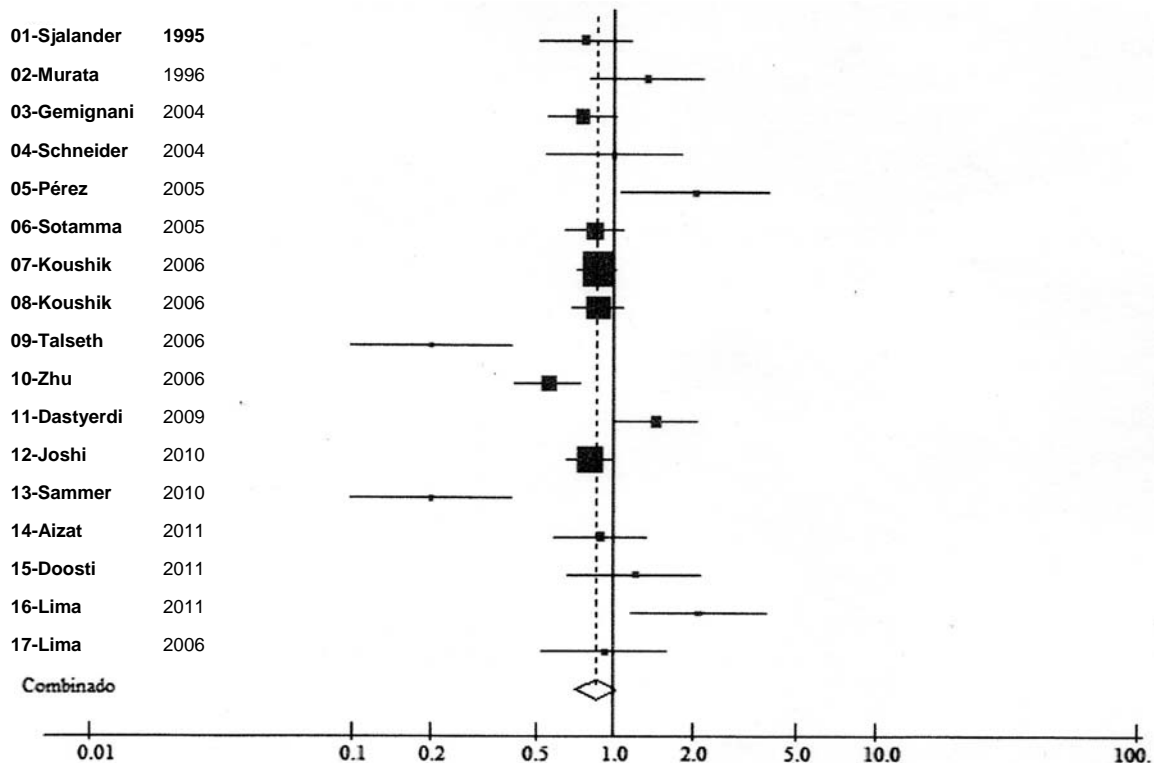
Para a realização da metanálise do polimorfismo do R72P no gene *TP53*, os resultados em grupos dos alelos RR, RP e PP foram comparados. Calculou-se a *OddsRatio*, o erro padrão e o limite inferior e superior da IC.

Tabela 07 –Cálculo de OddsRatio com agrupamentos genotípicos RR x RP+PP.

Referencia	Ano	Genótipo Tumor		Genótipo Controle		OR	IC (95%)	
		RR	RP+PP	RR	RP+PP		Inferior	Superior
01-Sjalander	1995	72	83	109	97	0.7730	0.5100	1.1730
02-Murata	1996	46	68	51	101	1.3380	0.8110	2.2080
03-Gemignani	2004	201	151	202	114	0.7520	0.5510	1.0270
04-Schneider	2004	38	45	39	46	0.9960	0.5450	1.8210
05-Pérez	2005	31	22	44	65	2.0610	1.0630	3.9930
06-Sotamma	2005	172	151	403	299	0.8450	0.6490	1.1010
07-Koushik	2006	452	404	669	515	0.8610	0.7220	1.0280
08-Koushik	2006	228	214	498	406	0.8690	0.6920	0.0910
09-Talseth	2006	10	76	65	95	0.2000	0.0980	0.4100
10-Zhu	2006	83	262	243	427	0.5580	0.4170	0.7480
11-Dastyerdi	2009	97	153	76	174	1.4490	1.0010	2.0970
12-Joshi	2010	239	446	310	468	0.8090	0.6540	1.0010
13-Sammer	2010	10	76	65	95	0.2000	0.0980	0.4100
14-Aizat	2011	70	132	75	126	0.8910	0.5940	1.3380
15-Doosti	2011	29	96	28	112	1.2070	0.6740	2.1600
16-Lima	2011	61	19	86	58	2.1330	1.1610	3.9170
17-Lima	2006	56	44	58	42	0.8305	0.6531	1.0562
Combinado		1839	2398	2963	3198	0.8570	0.7060	1.0400

Onde OR: *OddsRatio* e IC: intervalo de confiança.

Gráfico 05: Comparação entre RR e o agrupamento RP + PP, com OddsRatio 0,8570, IC95% = 0,7061-1,0402, com p=0,1184 e Qui-quadrado global de 68,7251 (DerSimonian-Laird).



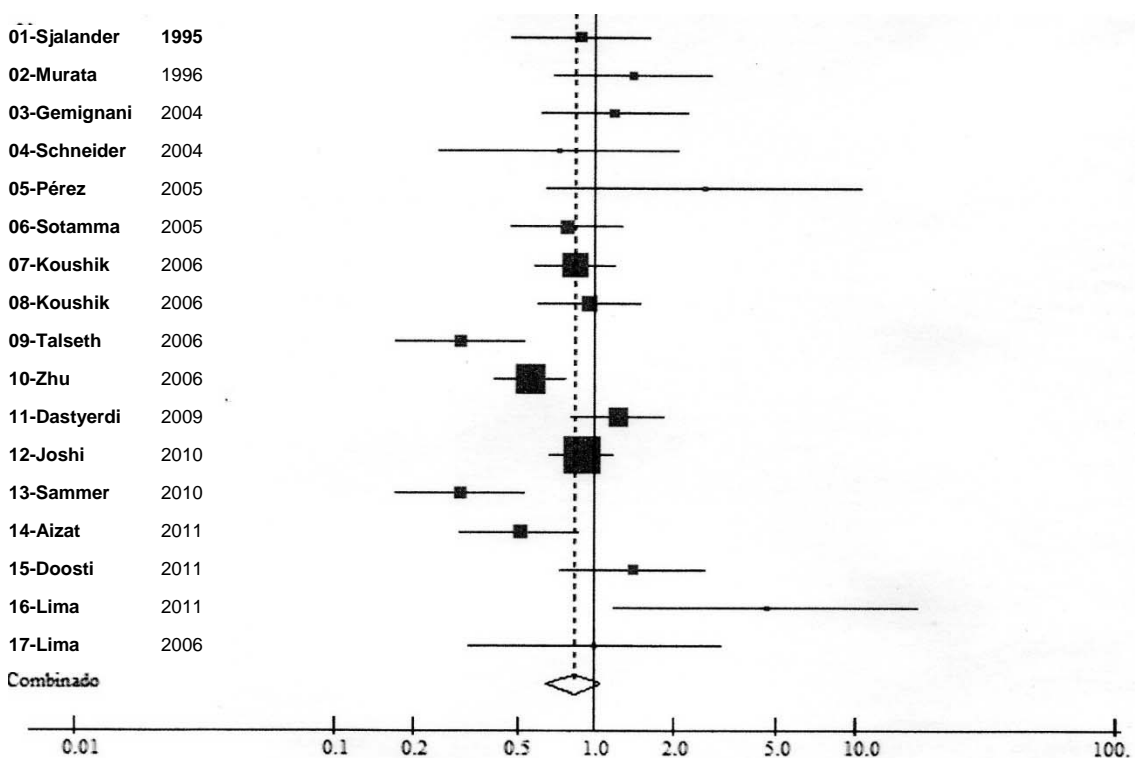
Foi realizada a comparação entre o agrupamento RR + RP e PP, com os seguintes resultados:

Tabela 08: Calculo de OddsRatio com agrupamentos genotípicos RR + RP x PP.

Referencia	Ano	Genótipo Tumor		Genótipo Controle		OR	IC (95%)	
		RR +RP	PP	RR + RP	PP		Inf	Sup
01-Sjalander	1995	134	21	181	25	0.8790	0.4750	1.6270
02-Murata	1996	100	14	127	25	1.3860	0.6910	2.7790
03-Gemignani	2004	334	18	297	19	1.1850	0.6160	2.2820
04-Schneider	2004	75	8	79	6	0.7260	0.2490	2.1150
05-Pérez	2005	51	2	97	12	2.6410	0.6520	10.7020
06-Sotamma	2005	297	26	657	45	0.7770	0.4720	1.2780
07-Koushik	2006	798	58	1116	68	0.8370	0.5840	1.2010
08-Koushik	2006	414	28	849	55	0.9500	0.5960	1.5150
09-Talseth	2006	47	39	128	32	0.3040	0.1720	0.5380
10-Zhu	2006	258	87	563	107	0.5640	0.4100	0.7750
11-Dastyerdi	2009	198	52	189	61	1.2270	0.8070	1.8650
12-Joshi	2010	581	104	671	107	0.8910	0.6660	1.1920
13-Sammer	2010	47	39	128	32	0.3040	0.1720	0.5800
14-Aizat	2011	158	44	176	25	0.5150	0.3020	0.8760
15-Doosti	2011	107	18	113	27	1.4080	0.7380	2.6850
16-Lima	2011	78	2	126	18	4.5920	1.1900	17.7210
17-Lima	2006	94	6	94	6	1.0950	0.8540	1.0990
Combinado		3677	560	5497	664	0.8270	0.6460	1.0590

Onde OR: *OddsRatio* e IC: intervalo de confiança

Gráfico 06: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,8267, IC95% = 0,6455-1,0582, com $p=0,1315$ e Qui-quadrado global de 50,4647 (DerSimonian-Laird).



A metanálise foi dividida por continentes e os resultados foram separados por grupos alélicos da seguinte maneira: RR + RP contra o homocigoto PP obtiveram-se os seguintes, Ásia OR (0,7674), com $p=0,0013$ e IC(95%) entre 0,6538 e 0,9008. América OR (1,0358) $p=0,8530$ e IC(95%) entre 0,7901 e 1,3577. Europa OR (0,6854), com $p=0,0086$ e IC(95%) entre 0,5200 e 0,9040, como pode ser visto no gráfico 7-9.

Gráfico 07: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homocigoto PP, com Odds Ratio 0,7674, IC95% = 0,6538-0,9008, com $p=0,0013$ e Qui-quadrado de 10,4074 no continente asiático (DerSimonian-Laird).

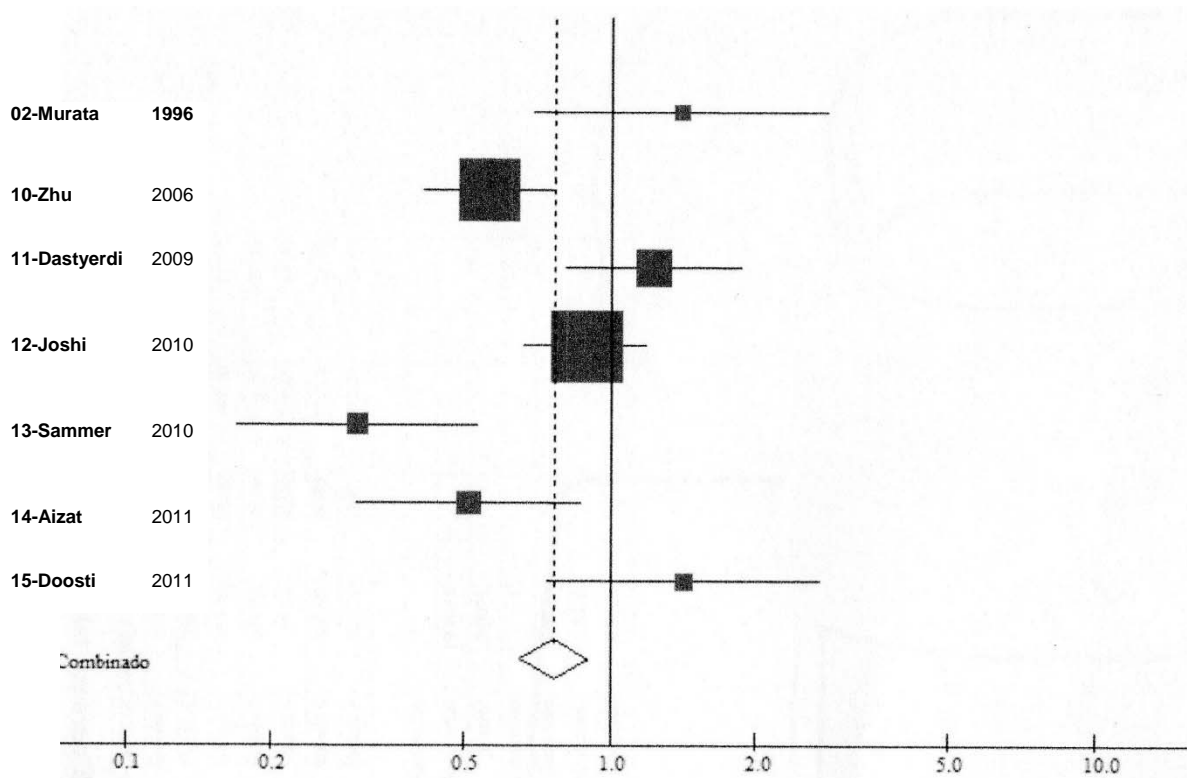


Gráfico 08: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,6995, IC(95%) = 0,4303-1,1371, com $p=0,1494$ e Qui-quadrado de 11,3401 no continente europeu (DerSimonian-Laird).

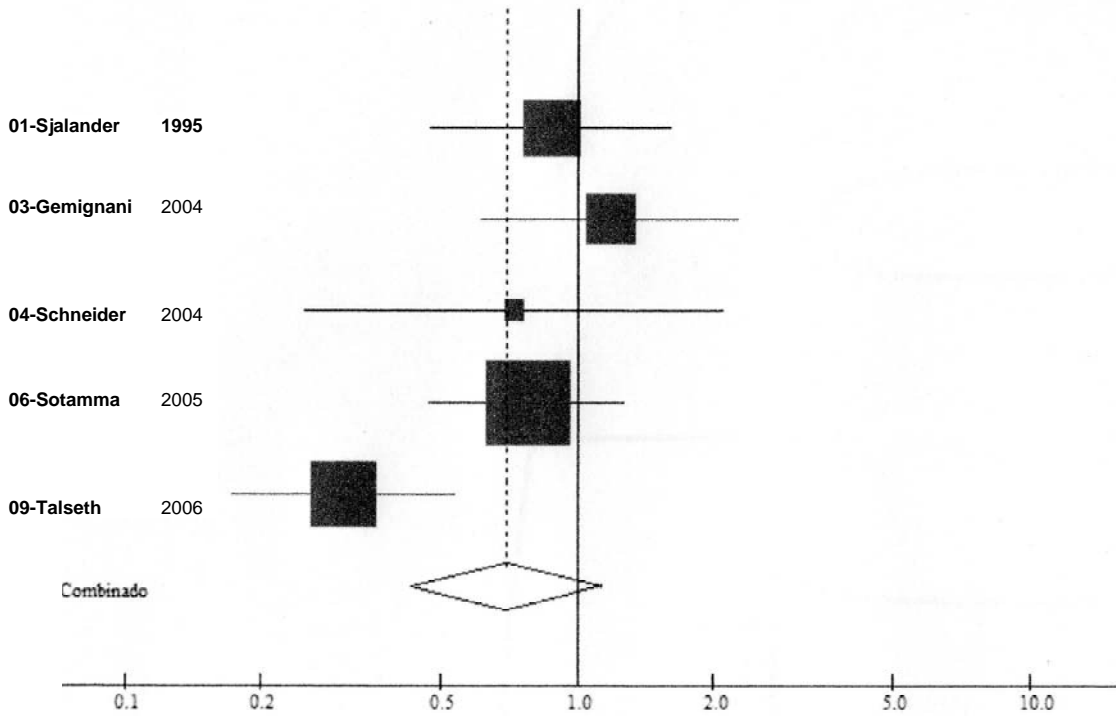
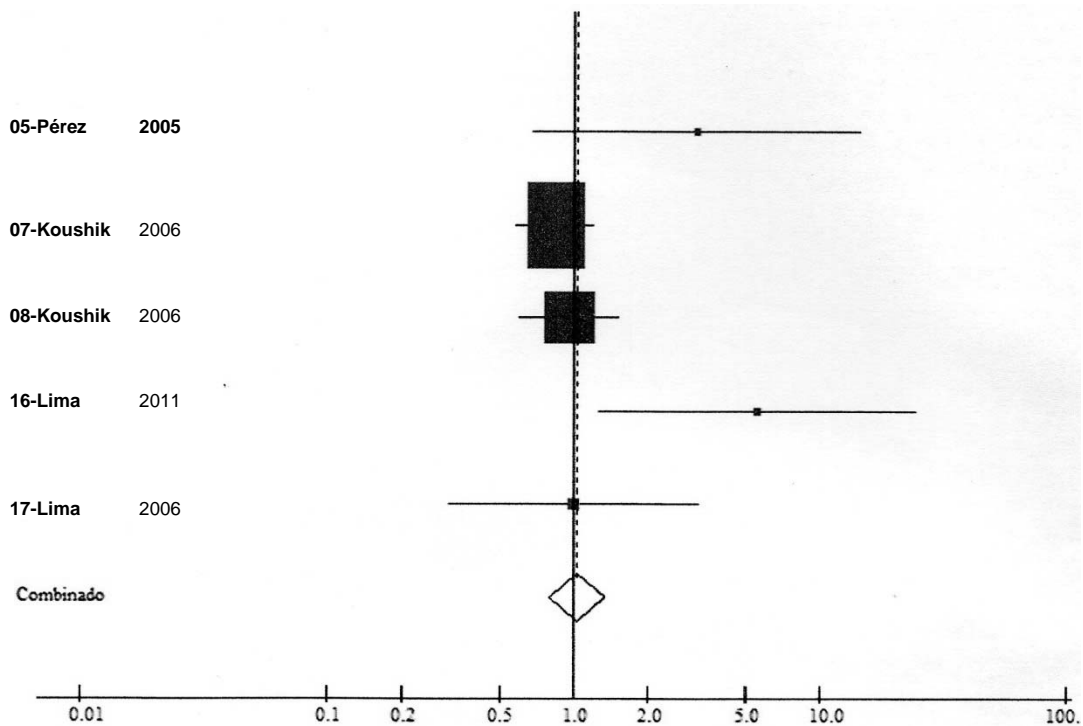


Gráfico 09: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 1,2423, IC(95%) = 0,7126-2,1656, com $p=0,4442$ e Qui-quadrado de 7,7010 no continente americano (DerSimonian-Laird).



As comparações entre o homozigoto RR com o agrupamento RP + PP não gerou mudanças significativas nos resultados, o que pode ser observado nos

gráficos 10, 11 e 12, que trazem os seguintes dados: Ásia OR=0,8078, Qui-Quadrado 9,9079 IC(95%) entre 0,7082 e 0,9214. Europa OR=0,7352, Qui-Quadrado 12,7080 IC(95%) entre 0,6221 e 0,8689. América OR=0,9386, Qui-Quadrado 0,8162 IC(95%) entre 0,8219 e 1,0718

Gráfico 10: Comparação entre o o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio0,8079 IC(95%) = 0,7082-0,9214, com $p=0,0016$ e Qui-quadrado de 9,9079 no continente asiático (DerSimonian-Laird).

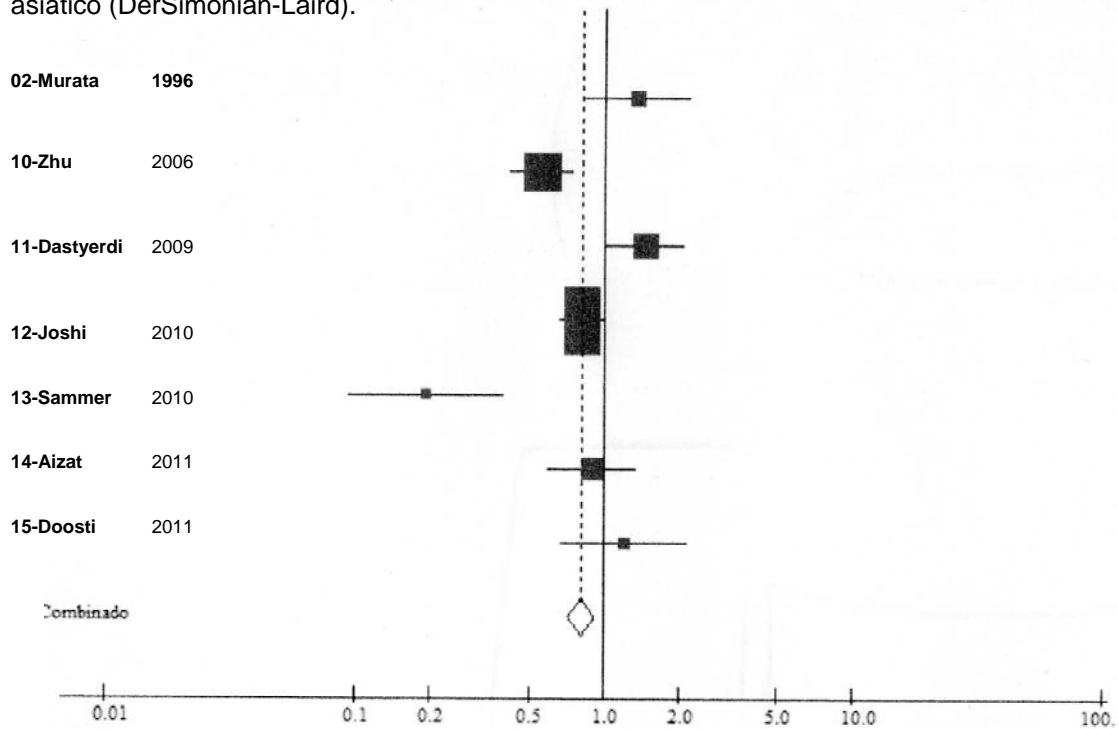


Gráfico 11: Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio 0,7352 IC(95%) = 0,6221-0,8689, com $p=0,0004$ e Qui-quadrado de 12,7080 no continente europeu (DerSimonian-Laird).

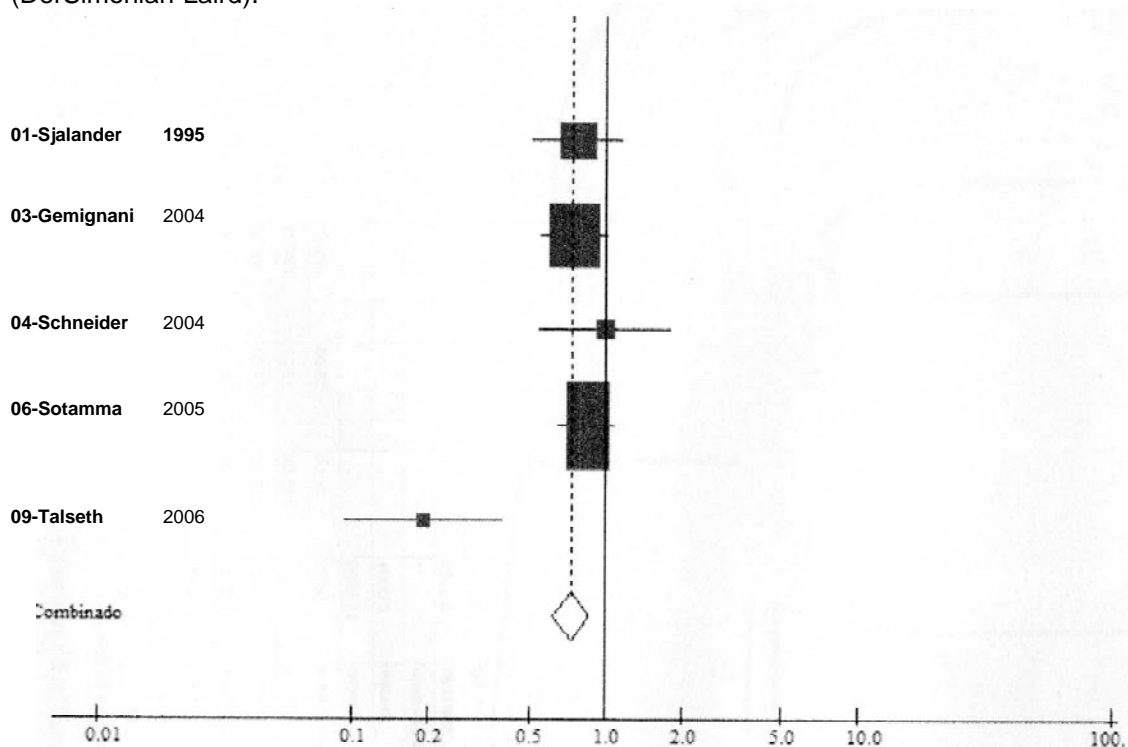
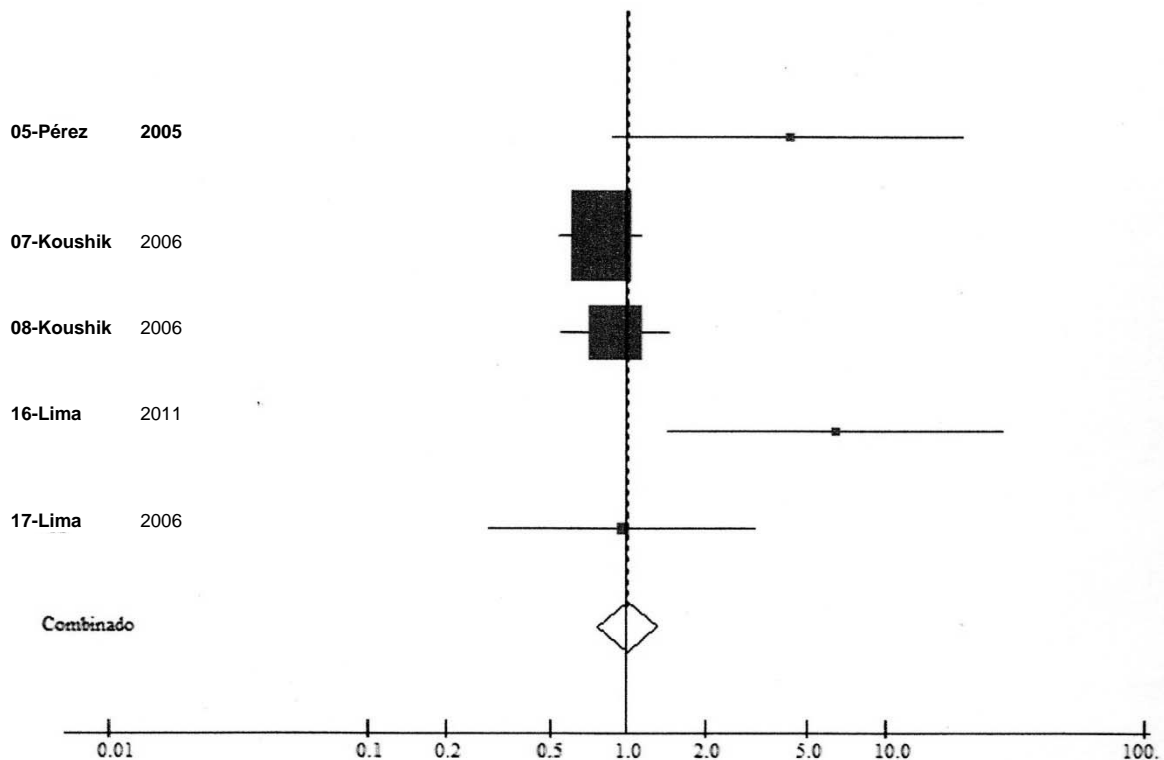


Gráfico 12: Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento PP + RP, com OddsRatio 0,9386 IC(95%) = 0,8219-1,0718, com $p=0,3663$ e Qui-quadrado de 0,8162 no continente americano (DerSimonian-Laird).



Os dados do continente americano também foram separados em América do Norte e América do Sul, devido à variância dos trabalhos em relação aos da Ásia e Europa. Confrontando os dados do agrupamento RR + RP x PP na América do Sul temos OR=3,5944, IC (95%) entre 2,0976 e 6,1590, $p=0,5772$ e Qui-quadrado de 0,3109. e da América do Norte temos OR=0,8149, IC (95%) entre 0,7177 e 0,9252, $p=0,6746$ e Qui-quadrado de 0,1762, que pode ser observado nos gráficos 13, 14 e 15.

Gráfico 13: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio $_{3,5944}$ IC(95%) = 2,0976 e 6,1590, com $p=0,5772$ e Qui-quadrado de 0,3109 na América do Sul (DerSimonian-Laird).

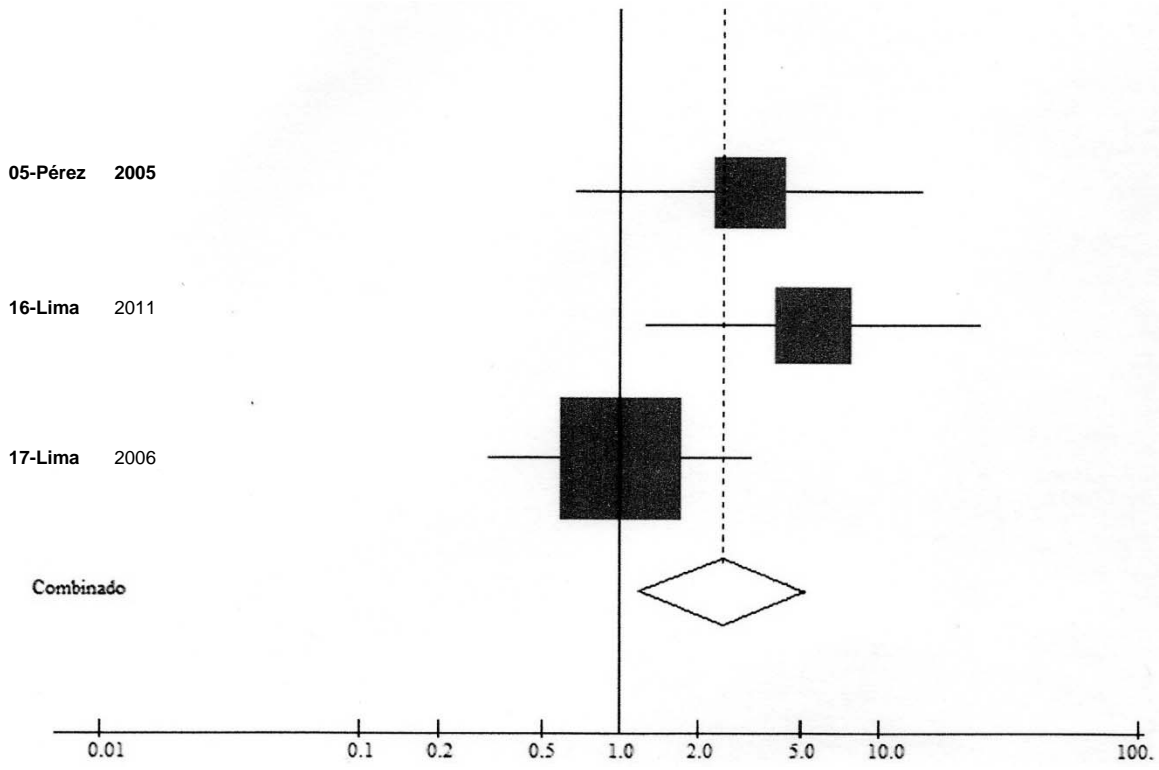


Gráfico 14: Comparação entre o alelo homozigoto RR e o agrupamento RP + PP, com OddsRatio $_{1,5364}$ IC(95%) = 1,0863 e 2,1731, com $p=0,0189$ e Qui-quadrado de 5,5106 na América do Sul (DerSimonian-Laird).

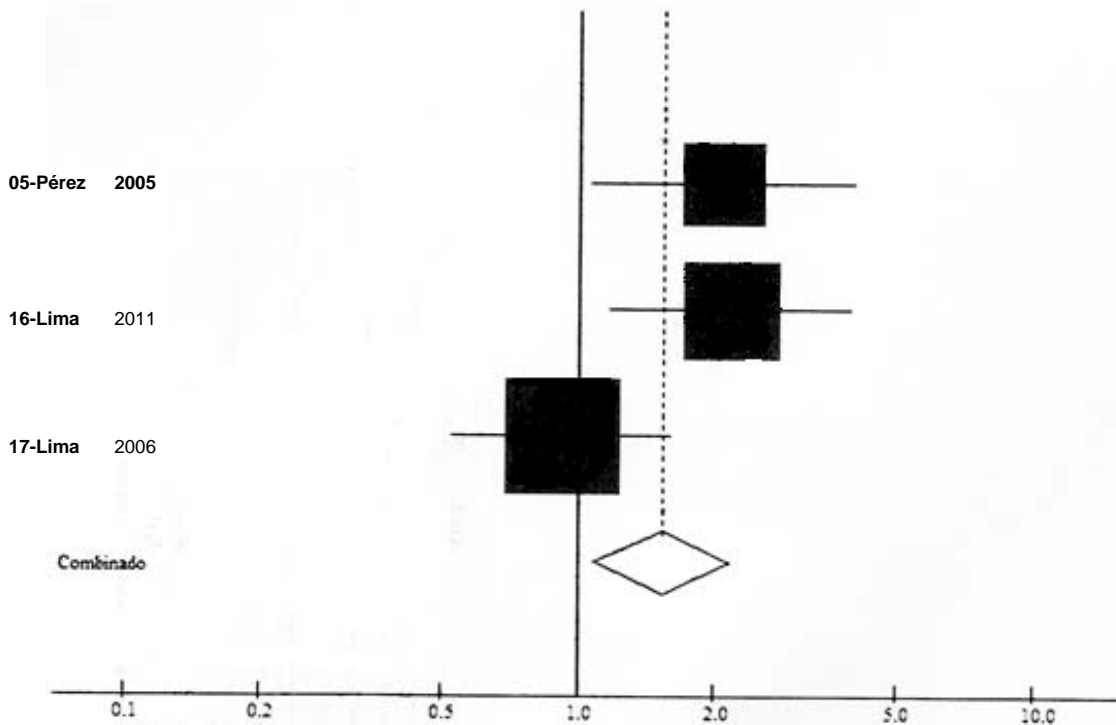
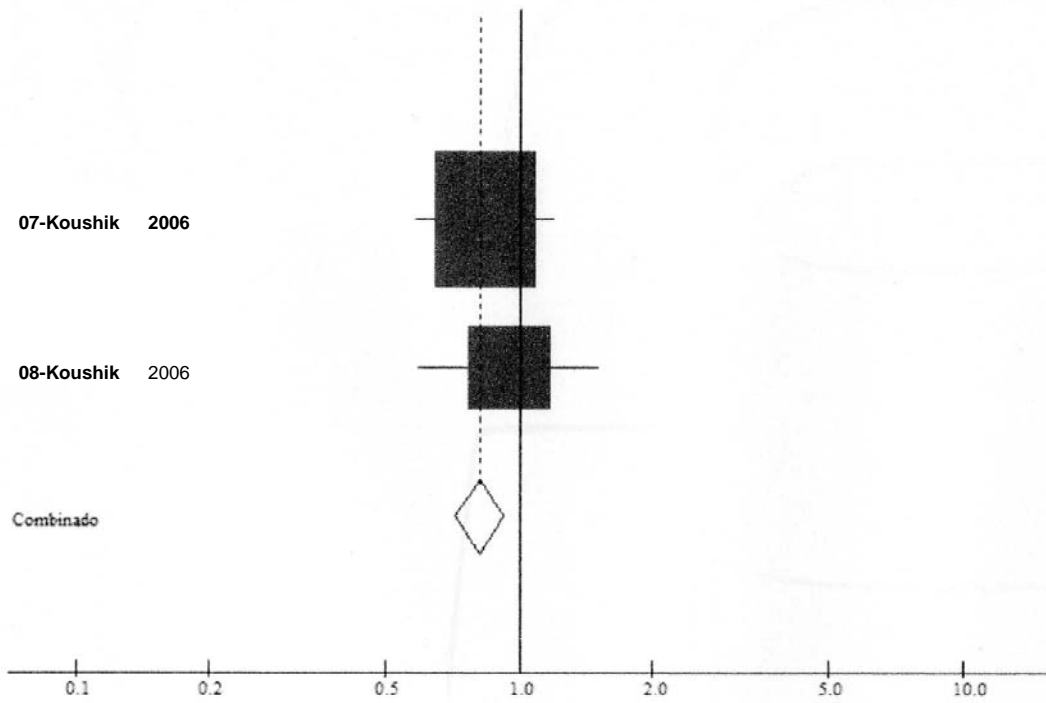


Gráfico 15: Comparação entre o agrupamento RR + RP e o alelo homozigoto PP, com OddsRatio 0,8149 IC(95%) = 0,7177 e 0,9252, com $p=0,6746$ e Qui-quadrado de 0,1762 na América do Norte (DerSimonian-Laird).



6 – DISCUSSÃO

A metanálise contou com 10.599 pessoas em três continentes (Ásia, Américas e Europa) e mostrou que na América do Sul o alelo polimórfico que codifica o aminoácido prolina na posição 72 do gene TP53 atua de maneira dominante para o desenvolvimento de CCR. O estudo começou com a formulação da pergunta para a pesquisa central do trabalho que foi: qual a relação entre o genótipo do polimorfismo do códon 72 do gene TP53 com a tumorigênese do câncer colorretal?

Com a pergunta formulada, foram colocadas no banco de dados os seguintes termos de busca: polimorfismo (*polymorphism*), TP53, câncer colorretal (*cancer colorectal*), códon R72P (*codon R72P*). E o resultado foi de 88 artigos, sendo que 26 foram excluídos por serem repetidos. Outros 25 foram excluídos no teste de relevância 1 e, dos 37 incluídos, 16 passaram pelo teste de relevância 2. Uma referência foi incluída por conter dados gerados no próprio laboratório, restando 17 artigos para realização da revisão sistemática e metanálise. A seleção dos artigos é um trabalho intrincado porque além de serem avaliados minuciosamente para seguir as regras de seleção, alguns trabalhos não são públicos e outros incompletos, faltando grupos controle, tipo de tecido coletado, métodos realizados para identificação genotípica, e muitos não fazem referências a outras partes do mundo, ou não citam grupos étnicos, sexo e idade. O pequeno número de trabalhos envolvendo R72P com CCR também é uma barreira para se levantar referências. Sabendo-se real a interferência do tipo de polimorfismo no desenvolvimento de CCR, os pesquisadores deveriam desenvolver mais trabalhos sobre o tema R72P e CCR.

Os dados extraídos dos estudos só puderam ser comparados porque nenhum estudo coletou somente tecido tumoral dos pacientes, mas também sangue. A importância de se coletar sangue dos pacientes e células tumorais é para se identificar a perda de heterozigose (LOH), conforme discutido pela hipótese de Knudson. Se o indivíduo for heterozigoto, então a presença de LOH é considerada, caso não seja, o tumor pode ter surgido por perda de microssatélite (MIS), ou ser esporádico, que acontece após a célula com mutações esporádicas sofrer várias mutações e se transforme em célula maligna (Pierce, 2011).

Segundo o *World Health Organization* (WHO, 2014), 695 mil pessoas morrem de CCR no mundo e a taxa de crescimento mundial é de 1,8% ao ano. O EUA é o país com maior incidência de CCR no mundo, cerca de 17 mil pessoas morrem no EUA por ano de CCR. No Mundo, a cada 100 mil pessoas, três possuem CCR com idade de 20-34 anos, 17 com idade de 35-49 e 300 nas pessoas acima de 50 anos, caracterizando uma doença da terceira idade. Na nossa metanálise na América do Norte apresentou os trabalhos com maior número de casos, porém dos 17 estudos, a Ásia obteve mais casos comparando os três continentes. Tanto na América do Norte como na Ásia e Europa, a metanálise resultou na presença do aminoácido arginina como dominante para CCR, e esse resultado é equivalente aos dados mundiais.

A revisão sistemática dos 17 artigos está sendo feita pela aluna de iniciação científica Liz Paula do Rosário. A metanálise totalizou 4.338 pacientes e 6.261 pessoas no grupo controle nos 17 artigos. Dos 4.338 casos, 1.895 apresentaram genótipo RR, 1.876 genótipo RP e 566 genótipo PP, no grupo controle de 6.261, 3.021 apresentaram RR, 2.570 RP e 670 PP, indicando a predominância do alelo arginina nos polimorfismo estudados. Como o grupo controle apresenta proporcionalmente os mesmos números com relação ao polimorfismo, fatores como etnias, sexo, tabaco e idade devem ser levados em consideração.

Com o maior número de estudos e conseqüentemente com o maior número de casos a Ásia forneceu 1.808 ou 41,6% do total. Apesar de a China ser um dos países com o maior número de CCR no mundo (Xu, 2014), somente um trabalho produzido na China passou pelos critérios de seleção, sendo incluso na metanálise. Da Ásia, o trabalho com maior peso veio do Japão (Joshi, 2010), com 685 casos de CCR, fornecendo 37,88% dos estudos.

Na Europa, cinco estudos estavam de acordo com os critérios de seleção e contribuíram com 999 casos, ou 23,1% dos casos para metanálise. Segundo o INCA (2014), a Europa já foi o centro de desenvolvimento de CCR no mundo, mas esse índice de incidência tem baixado relativamente nos últimos anos.

A América surgiu como um novo e importante campo de estudo do CCR (Koushik, 2006), pois dos 1.531 casos de CCR da América, 1298 ou 84,78% são da América do Norte, mais precisamente dos EUA. Os estudos americanos mostram

que o alelo codante da arginina como dominante. O estudo de Koushik (2006) separou os grupos de pacientes por etnia e os resultados de genotipagem foram equivalentes entre as etnias, a metanálise de Oliver (2010) indica que o fator alimentar é o responsável pelo aumento de casos nos EUA nos últimos anos. O continente Australiano é relatado com o um dos maiores locais de CCR (INCA), porém nenhum trabalho sobre a Austrália foi incluso nos critérios de seleção.

Todos os grupos foram submetidos ao teste de EHW, mostrando equilíbrio entre as populações. A construção da metanálise mostrou que os continentes possuem divergências entre os resultados. Nas populações da Europa, Ásia e América do Norte, em que há predominância do alelo arginina (Arg/Arg e Arg/Pro), o aminoácido arginina na proteína p53 foi identificado como um fator de desenvolvimento do CCR. Na América do Sul, os resultados mostram que a presença do aminoácido prolina (Arg/Pro e Pro/Pro) pode agir como codominante no surgimento do CCR.

Trabalhos como de Doosti (2011) e Onrat (2009), chegaram à conclusão que a presença do genótipo *Arg/Arg* é favorável para o surgimento de CCR. Ainda, esses autores realizaram trabalhos locais. Autores como Zheng (2014), Theodoratou (2012) e Qin (2013) realizaram metanálise com dados mundiais, e também chegaram aos resultados de que a presença do aminoácido arginina é favorável à tumorigênese do CCR. Porém, nenhum deles possui dados relativos aos trabalhos de pesquisa realizados na América do Sul. Os resultados obtidos nesse trabalho podem divergir dos realizados na Europa e Ásia devido ao fato de termos trabalhos realizados na América do Sul e as outras metanálises não possuem esses dados.

Nesta metanálise, e os gráficos 13 e 14 produzem resultados que expressam a prevalência do polimorfismo do alelo prolina, que tanto homocigoto PP versus associação do heterocigoto RP mais RR, e associado ao RP contra RR o OR está acima de um, indicando que o risco relativo é favorável a o desenvolvimento do CCR na presença do aminoácido prolina.

Mesmo sabendo que o SNP de p53 é um importante fator de prognóstico para o CCR, as metanálises realizadas pelos continentes não consideram o polimorfismo de p53 como único fator para a tumorigênese de CCR, pois o desenvolvimento de tumores depende de outros SNPs e de fatores ambientais. Até o presente momento

este trabalho é inédito, pois em nenhuma das metanálises disponíveis na literatura foi comparado o polimorfismo de códon 72 de *TP53* em CCR na América do Sul. Nenhum trabalho destacou que o aminoácido prolina possui influência no CCR nesse continente e nossos resultados mostram que os pacientes com P72P tiveram maior incidência de CCR do que os outros alelos (gráficos 13 e 14). O trabalho de Lima (2011), contou com 80 pacientes e a resposta que a presença de prolina na proteína p53 foi associada com o desenvolvimento de CCR. O trabalho de Pérez (2005), realizado na Argentina, coletou sangue e tecido tumoral de 53 pacientes, e o resultado para o desenvolvimento de CCR também foi associado com a presença do aminoácido prolina na proteína p53 no códon 72.

7 – CONCLUSÃO

Apesar do CCR possuir várias vias para se desenvolver, e o polimorfismo de *R72P* de *TP53* ser um dos inúmeros fatores nesse desenvolvimento, a maioria dos trabalhos não concluem que o polimorfismo possa ser fator predominante para o surgimento de CCR em humanos, porém esta metanálise conclui que a maioria dos paciente possuem a arginina como aminoácido na p53, no desenvolvimento do CCR, agindo então como dominante para a tumorigênese. Porém os gráficos 13 e 14 demonstram que o risco relativo para o desenvolvimento do CCR em humanos é alto tanto com a presença de arginina, quanto à de prolina, isto sugere que os alelos codantes de arginina e prolina para *R72P* de *TP53* na América do Sul agem de forma codominante para o processo de tumorigênese de CCR em humanos, por isso mais trabalhos devem ser realizados na América do Sul para que essa observação seja esclarecida.

7.1 - PERSPECTIVAS

Dados sobre o perfil alélico e genotípico de *R72P* da América do Sul devem ser pesquisados para comparar com os mundiais e levantar um grau de relevância para essas diferenças de expressividade.

Coletar dados de grupo controle de vários estudos, mesmo que não sejam de CCR, na América do Sul.

Estudar o fator migratório e miscigenação gênica com a população da América do Sul

Comparar o polimorfismo de p53 com outros SNPs, para verificar quais polimorfismos são determinantes no surgimento de CCR.

8. BIBLIOGRAFIA

- [1] ADES, S. "Adjuvant chemotherapy for colon cancer in the elderly". *ExpOncol.* 2009 38(3):103-8.
- [2] AJCC Cancer Staging Manual. Sixth Edition. ed. Springer-Verlag New York, Inc., 2002.
- [3] AIZAT AAA., SHAHPUDIN S NM., MUSTAPHA MA., ZAKARIA Z., SIDEK ASM., HASSAN MRA., ANKATHIL R. Association of Arg72Pro of *P53* Polymorphism with Colorectal Cancer Susceptibility Risk in Malaysian Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011. Vol. 12, 2909-13.
- [4] ATALLAH AN., CASTRO AA. Revisão Sistemática da Literatura e Metanálise. Diagnóstico & Tratamento. Cap. 02. Pg 20-28. 2006 São Paulo-SP.
- [5] ATREYA CE. SANGALE Z. XU N. MATLI MR. et al. *Cancer medicine* 2013; 2(4): 496-506.; doi:10.1002/cam4.97.
- [6] AYRES FM., CRUZ AD., STEELE P., GLICKMAN BW. Low doses of gamma ionizing radiation increase *hprt* mutant frequencies of TK6 cells without triggering the mutator phenotype pathway. *Genetics and molecular biology*, 2006. 29(3);558-561.
- [7] AYRES M., AYRES MJr., AYRES DL., SANTOS AS. BioEstat versão 5.0, Sociedade Civil Mamirauá, 2007, MCT-CNPq, Bélem-PA.
- [8] AZEVEDO RS. Sobrecarga do cuidador informal da pessoa idosa frágil: uma revisão sistemática. Dissertação de Mestrado da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais. Área de concentração: Saúde e Enfermagem. Belo Horizonte – MG. 2010.
- [9] BAE T., RHO K., CHOI J.W., HORIMOTO K., KIM W., KIM S.. Identification of upstream regulators for prognostic expression signature genes in colorectal cancer. *BMC Systems Biology* 2013. 7:86.
- [10] BAKER S.J. FEARON E.R. NIGRO J.M. HAMILTON S.R. VOGELSTEIN B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Reports* 14 abril 1989. 217-221.
- [11] BARON, JA. "Dietary Fiber and Colorectal Cancer: An Ongoing Saga". *Journal of the American Medical Association*, 2005. 294 (294(22)): 2904–2906. DOI:10.1001/jama.294.22.2904. PMID 16352792
- [12] BERNARDES V; FAGUNDES SS; FERREIRA FA; AYRES FM; Associação do polimorfismo r72p do gene *tp53* com o prognóstico do câncer de mama. *Revista Movimenta* 2012. ISSN: 1984-4298 vol.5 n.1
- [13] BERWANGER O; SUZUMURA EA; BUEHLER AM; OLIVEIRA JB. Como avaliar criticamente revisões sistemáticas e metanálise? *Revista brasileira de terapia intensiva*. Vol 19 n04 outubro-dezembro, 2007.
- [14] BIREME Disponível em: <<http://www.bireme.br/php/index.php>> acesso: 15 Dez. 2013.

- [15] BOLOCAN A., ION D., CIOCAN D.N., PADURARU D.N.. Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. *Chirurgia* 2012. September-october 107:555-563.
- [16] CAO Z, SONG JH, PARK YK, MAENG EJ, NAM SW, LEE JY, PARK WS. The p53 codon 72 polymorphism and susceptibility to colorectal cancer in Korean patients. *Neoplasma*. 2009; 56(2):114-8.
- [17] CAPES Disponível em: <<http://www.periodicos.capes.gov.br/>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [18] CHEN M-B. WU X-Y. YU R. LI C. WANG L-Q. et al. P53 status as a predictive biomarker for patients receiving neoadjuvant radiation-based treatment: A meta-analysis in rectal cancer. *Plos ONE* 7(9): e45388. doi:10.1371/journal.pone.0045388. 2012.
- [19] CHEN X, LIU F, LI B, WEI YG, YAN LN, WEN TF. P53 codon 72 polymorphism and liver cancer susceptibility: A meta-analysis of epidemiologic studies. *World j Gastroenterology*, 7 March 2011, 17(9): 1211-18.
- [20] CHERDYNTSEVA NV, GERVAS PA, LITVYAKOV NV, STAKCHEEVA MN, PONOMARYEVA AA, DOBRODEEV AY, DENISOV EV, BELYAVSKAYA VA, CHOINZONOV EL. Age-related function of tumor suppressor gene *TP53*: contribution to cancer risk and progression. *ExpOncol*. 2010 32(3):205-8.
- [21] COCHRANE Disponível em: <<http://cochrane.bireme.br/portal/php/index.php>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [22] CONTE ACF, SALLES ABCF: A importância do gene p53 na carcinogênese humana. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2002, 24(2):85-89.
- [23] CROUS-BOU M. RENNERT G. SALAZAR R. et al. Genetic polymorphisms in fatty acid metabolism genes and colorectal cancer. *Journal mutagenesis* vol.27 no.2 pp 169-176, 2012.
- [24] CURTAIT, R., GARICOCHEA, B., COTTI, G.. Livro HNPCC Câncer Colorretal Hereditário Não-Polipose. Pag. 44-45. ed.Reichmann& Autores Editores.Serie Câncer Raul Cutait e Antonio Carlos Buzaid editores.
- [25] DAHABREH I.J. LINARDOU H. BOUZIKA P. *TP53* Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, 2010. 19:1840-1847.
- [26] DeLEO A.B. JAY G. APPELLA E. DUBOIS G.C. LAW L.W. OLD L.J. Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *PNAS Immunology* maio 1979 vol.76 n°05 2420-2424.
- [27] DONEHOWER L.A. HARVEY M. SLAGLE B.L. McARTHUR M.J. MONTGOMERY Jr. C.A. BUTEL J.S. BRADLEY A. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumor. *Nature*. Vol.356 19 março 1992. 215-218.
- [28] DONEHOWER L.A. p53: guardian and suppressor of longevity? *Experimental Gerontology* 2005;40(1-2):11-5.

- [29] DOOSTI A, ZAMANI M, DEHKORDI PG, TAHERI S, BANITALEBI M, MAHMOUDZADEH M. Association of the p53 codon 72 polymorphism with colorectal cancer in South West of Iran. *Scientific Research and Essays* vol. 6)15, (10 Aug, 2011) pp.3148-52
- [30] ELIYAHU D. RAZ A. GRUSS P. GIVOL D. OREN M. Participation of p53 celluartumour antigen in transformation of normal embryonic cells. *Nature*, dezembro 1984. 13-19.
- [31] ELSEVIER Disponível em: <<http://www.elsevier.com/online-tools/embase>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [32] FANG S, KRAHE R, LOZANO G, HAN Y, CHEN W, POST SM, ZHANG B, WILSON CD, BACHINSKI LL, STRONG LC, AMOS CI. Effects of MDM2, MDM4 and *TP53* codon 72 polymorphisms on cancer risk in a cohort study of carriers of *TP53*germline mutations. *PLoS One*. 2010 May 26;5(5):e10813.
- [33] FARHOUD S, BROMBERG SH, BARRETO E, GODOY AC. Variáveis clínicas e macroscópicas que influenciam o prognóstico do carcinoma colorretal. *ArqGastroenterol*. V.39 n°3 jul/set 2002.
- [34] FERREIRA, Carlos Gil; ROCHA, José Cláudio. *Oncologia Molecular*. ed. Atheneu pag.303.
- [35] FETT-CONTE A.C., SALLES A.B.C.F. The importance of the p53 gene in human carcinogenesis. *Rev.bras.hematol.hemoter.*, 2002,24(2):85-89.
- [36] FLOSSMANN E, ROTHWELL PM. "Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies". 2007. *Lancet* 369 (9573): 1603–13. DOI:10.1016/S0140-6736(07)60747-8. PMID 17499602. PMID 17499602
- [37] FREBOURG T. KASSEL J. LAM K.T. GRYKA M.A. BARBIER N. ANDERSEN T.I. BORRESEN A.L. FRIEND S.H. Germ-line mutations of the p53 tumor suppressor gene in patients with high risk for cancer inactivate the p53 protein. *PNAS USA Genetics* vol. 89 1992 6413-6417.
- [38] GEMIGNANI F, MORENO V, LANDI S, MOULLAN N, CAHBRIER A, GUTIÉRREZ-ENRÍQUEZ S, HALL J, GUINO E, PEINADO MA, CAPELLA G, CANZIAN F. A *TP53* polymorphism is associated with increased risk of colorectal cancer and with reduced levels of *TP53* mRNA. *Oncogene*. 2004 Mar 11;23(10):1954-6.
- [39] GHITA C, VILCEA ID, DUMITRESCU M, *et al*. The prognostic value of the immunohistochemical aspects of tumor suppressor genes p53, bcl-2, PTEN and nuclear proliferative antigen Ki-67 in resected colorectal carcinoma. *RJME* 2012. 53: 549-556.
- [40] GODAI TI, SUDA T, SUGANO N, TSUCHIDA K, SHIOZAWA M, SEKIGUCHI H, SEIKIYAMA A, YOSHIHARA M, MATSUKUMA S, SAKUMA Y, TSUCHIYA E, KAMEDA Y, AKAIKE M, MIYAGI Y. Identification of colorectal cancer patients with tumors carrying the *TP53* mutation on the codon 72 proline allele that benefited most from 5-fluorouracil (5-FU) based postoperative chemotherapy. *BMC Cancer*. 2009 Dec 2;9:420.

- [41] GRIFFITHS AJF. MILLER JH. SUZUKI DT. Introdução à Genética. 7ª Ed. Guanabara Koogan, 2002 Rio de Janeiro-RJ.
- [42] HAIDICH A.B. Meta-analysis in medical research. Hippokratia 2010 vol.14 29-37.
- [43] HAMILTON SR. Colorectal Carcinoma in patients with Crohn's Disease. Gastroenterology 1985; 89; 398-407
- [44] HINDS P. FINLAY C. LEVINE A.J. Mutation in required to activate the p53 gene for cooperation with the ras oncogene and transformation. Journal of Virology, fevereiro 1989, vol.63, nº2. 739-746.
- [45] IBECS Disponível em: <<http://ibecs.isciii.es/cgi-bin>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [46] IONOV Y, PEINADO MA, MALKHOSYAN S, SHIBATA D, PERUCHO M. "Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis". Nature 363 (6429): 558–61. 1993. DOI:10.1038/363558a0. PMID 8505985
- [47] IRARRÁZABAL CE, ROJAS C, ARACENA R, MÁRQUEZ C, GIL L: CHILEAN Pilot study on the risk of lung cancer associated with codon 72 polymorphism in the gene of protein p53. *ToxicolLett*2003, 144:69-76.
- [48] JENKINS J.R. RUDGE K. CHUMAKOV P. CURRIE G.A. The cellular oncogene p53 can be activated by mutagenesis. Nature 317, outubro 1985. 816-818.
- [49] JIANG J.X. ZHANG N. LIU Z.M. WANG Y.Y. detection of microRNA-21 Expression as a potential screening biomarker for colorectal cancer: a metanalysis. Asian Pac J. Cancer, 15, 7583-1588.
- [50] JONES SJ, CHI X, GU X *et al.* P53 Polymorphism and age of onset of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in a Caucasian population. Revs. Clinical cancer research. Feb 2011. Vol.10, 5846-5849.
- [51] JOSHI A M, BUDHATHOKI S, OHNAKA K, MIBU R, TANAKA M, KAKEJI Y, MAEHARA Y, OKAMURA T, IKEJIRI K, FUTAMI K, MAEKAWA T, YASUNAMI Y. TP53 R72P and MDM2 SNP309 Polymorphisms and Colorectal Cancer Risk: The Fukuoka Colorectal Cancer Study. Jpn J ClinOncol. 2011 Feb;41(2):232-8.
- [52] KATKOORI VR, JIA X, SHANMUGAM C, WAN W, MELETH S, BUMPERS H, GRIZZLE WE, MANNE U. Prognostic significance of p53 codon 72 polymorphism differs with race in colorectal adenocarcinoma. Clin Cancer Res. 2009 Apr 1;15(7):2406-16.
- [53] KATKOORI VR. SHANMUGAM C. JIA X. VITTA SP. STHANAM *et al.* Prognostic significance and gene expression profiles of p53 mutations in microsatellite stable stage III colorectal adenocarcinomas. Plos ONE 7(1): e30020. Doi:10.1371/journal.pone.0030020. 2012
- [54] KOUSCHIK A, TRANAH GJ, MA J, STAMPFER MJ, SESSO HD, FUCHS CS, GIOVANNUCCI EL, HUNTER DJ. p53 Arg72Pro polymorphism and risk of colorectal adenoma and cancer. Int J Cancer. 2006 Oct 15;119(8):1863-8.
- [55] KOZAKI K, INAZAWA J, Tumor-suppressive microRNA silenced by tumor-specific DNA hypermethylation in cancer cells. Cancer Science. The official journal of the Japanese Cancer Association, May 2012. Vol.103 nº05, 837-845.

- [56] KRESS M, MAY E, CASSINGENA R, MAY P. Simian virus 40 transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 tumor serum. *Journal of Virology*, agosto 1979. Vol.31 nº 2. 472-483.
- [57] KRÜGER S, BIER A, ENGEL C, MANGOLD E, PAGENSTECHE C, von KNEBEL D M, HOLINSKI-FEDER E, MOESLEIN G, SCHULMANN K, PLASCHKE J, RÜSCHOFF J, SCHACKERT HK; German Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer Consortium. The p53 codon 72 variation is associated with the age of onset of hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *J Med Genet*. 2005 Oct;42(10):769-73.
- [58] KURODA Y, TSUKINO H, NAKAO H, IMAI H, KATOH T: p53 Codon 72 polymorphism and urothelial cancer risk. *Cancer Lett*2003, 189:77-83.
- [59] LANE D.P. CRAWFORD L.V. T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. *Nature* 278. Março 1979. 261-263.
- [60] LANE D.P. Cancer. P53, Guardian of the Genome. *Nature*. 1992;358:15-6
- [61] LANE D.P, BENCHIMOL S. p53: oncogene or anti-oncogene?. *Gene & Development* 1990. 4:1-8.
- [62] LANGEROD A, BUKHOLM IR, BREGARD A, LONNING PE, ANDERSEN TI, ROGNUM TO, MELING GI, LOTHER RA, BORRESEN-DALE AL. The *TP53* codon 72 polymorphism may affect the function of *TP53* mutations in breast carcinomas but not in colorectal carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Dec;11(12):1684-8.
- [63] LEAN I.J. RABIEE A.R. DUFFIELD T.F. DOHOO I.R. Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. *J. Dairy Sci*. 2009. 92:3545-3565.
- [64] LEE JM, LEE YC, YANG SY, SHI WL, LEE CJ, LUH SP, CHEN CJ, HSIEH CY, WU MT: Genetic polymorphisms of p53 and GSTP1, but not NAT2, are associated with susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer* 2000, 89:458-464.
- [65] LEVIN KE, DOZOIS RR. Department of Surgery, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota 55905 Epidemiology of large bowel cancer. *World J Surg*. 1991 Sep-Oct;15(5):562-7.PMID 1949852
- [66] LEWIS, SM. *Medical-Surgical Nursing in Canada*. Elsevier, 2006. ISBN 9780779699698.
- [67] LI M, ALI S, M, UMM-A-OMARAHGILANI S, LIU J, LI Y, ZUO X. Kudo's pit pattern classification for colorectal neoplasm: A meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. Setembro 2014. 12649-12656.
- [68] LILACS Disponível em: <<http://lilacs.bvsalud.org/>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [69] LIMA FCC, FERREIRA FA, MOTA ED, SADDI VA, AYRES FM. *TP53* codon 72 polymorphism in colorectal cancer patients from Midwest Brazil. Pontifical Catholic University of Goiás. 2011.
- [70] LIMA JM, SERAFIM PVP, SILVA IDCG, FORONES NM. Role of the genetic polymorphism of p53 (codon 72) gene in colorectal cancer. *ArqGastroenterol*. 2006;43(1):8-13.

- [71] LINZER D.I. LEVINE A.J. Characterization of a 54k Dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40 transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell*. Maio 1979. 43-52.
- [72] LOEB KR. ASGARI MM. HAWES SE. et al. Analysis of *TP53* codon 72 polymorphisms, *TP53* mutations, and HPV infection in cutaneous squamous cell carcinomas. *Plos ONE* 7(4):e34422. doi:10.1371/journal.pone.0034422. 2012.
- [73] LÓPEZ I., OLIVEIRA LP.,TUCCI P.,VALÍN FA., COUDRY RA., MARÍN M. Different mutation profiles associated to P53 accumulation in colorectal cancer. *Gene* 499, 2012. 81-87.
- [74] LOWE S.W. SHMITT M.E. SMITH S.W. OSBORNE B.A. JACKS T. P53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 1993 Apr 29;362(6423):847-9.
- [75] MALKIN D. LI F.P. STRONG L.C. FRAUMENI J.F. JR. NELSON C.E. KIM D.H. KASSEL J. CRYKA M.A. BISCHOFF F.Z. TAINSKY M.A. Ger-line p53 mutation in a familial syndrome of breast cancer sarcomas and other neoplasms. *Science* 30 nov. 1990. 250:1233-8.
- [76] MARTINEZ, E.Z.. Metanálise de ensaios clínicos controlados aleatorizados: aspectos quantitativos. *Medicina (Ribeirão Preto)*40(2), 223-235.
- [77] MARUYAMA S.A.T. ZAGO M.M.F. O processo de adoecer do portador de colostomia por câncer. *Revista Latino Informação*. 2005 SciELO Brasil.
- [78] MEALIFFE ME, et al. Assessment of Clinical Validity of a Breast Cancer Risk Model Combining Genetic and Clinical Information. *JNCI editorials* 2010; 102(21)
- [79] MICHELONE A.P.C. SANTOS V.L.C.G Qualidade de vida de adultos com CCR com e sem ostal, *Jcol.org.br*; 2004. SciELO Brasil
- [80] Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevalência e Vigilância. Incidência do câncer no Brasil. Rio de Janeiro (Brasil): INCA; 2014.
- [81] MOGI A. KUWANO H. *TP53* mutations in nonsmall cell lung cancer. *Jornal of biomedicine end biotechnology* vol. 2011. Article ID 583929, 9 pages.
- [82] MOORE K.L. DALLEY A.F. AGUR A.M.R. Moore Anatomia orientação para clinica. 7ªed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro – RJ: 2014
- [83] MORIKAWA T., KUCHIBA A., LIAO X., IMAMURA Y., et. al. Tumor TP53 expression status, body mass index, and prognosis in colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 2012. September, 131(5): 1169-1178.
- [84] MURATA M, TAGAWA M, KIMURA M, KIMURA H, WATANABE S, SAISHO H. Analysis of a germ line polymorphism of the p53 gene in lung cancer patients; discrete results with smoking history. *Carcinogenesis*. 1996 Feb;17(2):261-4.
- [85] NCBI Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [86] NETTER, FH. Atlas de Anatomia Humana. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

- [87] NIGRO J.M. BAKER S.J. PRESINGER A.C. JESSUP J.M. HOSTETTER R. VOGELSTEIN B. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* vol.342, 7dezembro 1989. 705-708.
- [88] OLIVER M., HOLLSTEIN M. HAINAUT P. *TP53* mutations in human cancers: origins, consequences and clinical use. *Cold spring harbperspectbiol* 2010;2a001008.
- [89] OLSCHWANG S, LAURENT-PUIG P, VASSAL A *et al.* Characterization of a frequent polymorphism in the coding sequence of the *TP53* gene in colonic cancer patients and a control population. *Human Genetics* 86: 369-370. 1991
- [90] ONRAT ST, ELLİDOKUZ E, KÜPELİOĞLU A, DURHAN E Frequency of *TP53* codon72 polymorphism in cases with colon cancer *Turk J Cancer* 39(1):5-10, 2009
- [91] PARADA L.F. LAND H. WEINBERG R.A. WOLF D. ROTTER V. Cooperation between gene encoding p53 antigen and ras in cellular transformation. *Nature* dezembro 1984 nº19 649-51.
- [92] PARDINI B. NACCARATI A. VODICKA P. KUMAR R. Gene expression variations: potentialities of máster regulator polymorphisms in colorectal cancer risk. *Journal Mutagenesis* vol.27 no.2 pp. 161-167, 2012.
- [93] PARKER MC, WILSON MS, MENEZIES D, SUNDERLAND G, CLARK DN, KNIGHT AD, CROWE AM; Surgical and Clinical Adhesions Research (SCAR) Group.. (2005). The SCAR-3 study: 5-year adhesion-related readmission risk following lower abdominal surgical procedures. *Colorectal Dis.* 7 (6): 551–558. DOI:10.1111/j.1463-1318.2005.00857.x. PMID 16232234
- [94] PAULSEN F. WASCHKE J. Sobotta Atlas de anatomia humana. Guanabara Koogan. 23ªed. Rio de Janeiro – RJ: 2013.
- [95] PEREIRA, A.L. Revisão sistemática da literatura sobre produtos usados no tratamento de feridas. 2006. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.
- [96] PÉREZ LO, ABBA MC, DULOUT FN, GOLIJOW CD: Evaluation of p53 codon 72 polymorphism in adenocarcinomas of the colon and rectum in La Plata, Argentina. *World J Gastroenterol* 2006, 12:1426-1429.
- [97] PICELLI S., BERMEJO JL., CLAUDE JC., *et. al.* Meta-Analysis of Mismatch repair polymorphisms within the cogent consortium for colorectal cancer susceptibility. *PLOS ONE* September 2013 vol.08. e72091.
- [98] PIERCE AB. *Genetics: a conceptual approach*, 3rd ed. Guanabara Koogan, 2011. Rio de Janeiro.
- [99] PINHASI O. OREN M. Expression of the mouse p53 cellular tumor antigen in monkey cells. *Molecular and Cellular Biology*, Outubro 1984. Vol. 04 nº 10. 2180-2186.
- [100] PINHO M.S.L. Estadiamento molecular do CCR: O futuro se aproxima. *Revista brasileira de coloproctologia.* 2005 Jcol.org.br.

- [101]PMC Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [102]PUBMED Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [103]QIN X. PENG Q. TANG X. CHEN Z. et al. An updated meta-analysis on the association of MDM2 SNP309 polymorphism with colorectal cancer risk. Plos ONE 8(9): e76031; doi:10.1371/journal.pone.0076031, 2013.
- [104]RIBEIRO Jr.U., SAFATLE-RIBEIRO. AV. p53 in clinical contexts: yes or not? ArqGastroenterol 2006; 43(1):6-7.
- [105]RUFINI A. TUCCI P. CELARDO I. MELINO G. Senescence and aging: the critical roles of p53. Oncogene(2013) 32, 5129-5143; doi:10.1038/onc.2012.640. 2013
- [106]SACKETT, D. L.; ROSENBERG, W., et al. Evidence based Medicine: what it is and what it isn't. BMJ, v.312, n.7023, p.71, 1996.
- [107]SAGNE C. MARCEL V. AMADOU A. HAINAUT P. OLIVIER M. HALL J. A meta-analysis of cancer risk associated with the *TP53* intron 3 duplication polymorphism (rs17878362): geographic and tumor-specific effects. Cell death and disease (2013) 4, e492; doi: 10.1038/cddis.2013.24.
- [108]SAMMER AS, SHAH ZA, SYEED N, BANDAY MZ, BASHIR SM, BHAT BA, SIDDIGI MA. *TP53* Pro47Ser and Arg72Pro polymorphisms and colorectal cancer predisposition in an ethnic Kashmiri population. Genet Mol Res. 2010 Apr13;9(2):651-60.
- [109]SAMPAIO RF, MANCINI MC. Estudo de revisão sistemática: um guia para a síntese criteriosa da evidencia científica. Revista Brasileira de Fisioterapia. São Carlos-SP. 2007, 11(1):83-9.
- [110]SAMPIERI RH, COLLADO CF, LUCIO PB, Metodologia de pesquisa. São Paulo: McGraw; 2006. P. 3-21.
- [111]SANTOS EJF, CUNHA M. Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. Millenium 2013, 44:85-98.
- [112]SAYHAN N, YAZICI H, BUDAK M, BITISIK O, DALAY N. P53 codon 72 genotypes in colon cancer. Association with human papillomavirus infection. Research communications in molecular pathology and pharmacology. Vol. 109. 2001.
- [113]SCHEIDER-STOCK R, BOLTZE C, PETERS B, SZIBOR R, LANDT O, MEYER F, ROESSNER A. Selective loss of codon 72 proline p53 and frequent mutational inactivation of the retained arginine allele in colorectal cancer. Neoplasia. 2004 Sep-Oct;6(5):529-35.
- [114]SCIELO Disponível em: <<http://www.scielo.org/php/index.php>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [115]SHEN D. MAO W. LIU T. LIN Q. LU X. WANG Q. LIN F. EKELUND U. WIJNDAELE. Sedentary behavior and incident cancer: ameta-analysis of prospective studies. PLOS ONE agosto 2014, vol.09 e105709
- [116]SILVA A.M.T.C. O polimorfismo do gene p53^{72(RP)} no câncer de cabeça e

pescoço: estudo de associação e meta-análise. Tese de Doutorado em Biologia – Área de Concentração: Biologia Celular e Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas - ICB, da Universidade Federal de Goiás – UFG. 2009.

- [117] SJÄLANDER A, BIRGANER R, ATHILIN L, STENLIG R, RUTGARD J, BECKMAN L, BECKAM G: P53 germ line haplotypes associated with increased risk for colorectal cancer. *Carcinogenesis* 1995, 16:1461-1464.
- [118] SJÄLANDER A, BIRGANER R, HALLMANS G, CAJANDER S, LENNER P, ATHILIN L, BECKMAN G, BECKMAN L: p53 polymorphisms and haplotypes in breast cancer. *Carcinogenesis* 1996, 17:1313-1316.
- [119] SLYSKOVA J. NACCARATI A. PARDINI B. et al. Differences in nucleotide excision repair capacity between newly diagnosed colorectal cancer patients and healthy controls. *Journal mutagenesis* vol. 27 no.2 pp 225-232, 2012. Doi:10.1093/mutage/ger088.
- [120] SMITH A.E. SMITH R. PAUCHA E. Characterization of different tumor antigens present in cells transformed by simian virus 40. *Cell*. Outubro 1979 335-346.
- [121] SNEDEKER SM. Tumor Suppressor Gene: Guardians of our Cells. Program on Breast Cancer and Environmental Risk Factors. 2014. 1813/14300.
- [122] SOKAL RR. ROHLF FJ. *Biometry* 3ª Ed. W.H. Freeman and Company, 1995 New York-NY.
- [123] SOTAMMA K, LIYANARACHCHI S, MECKLIN JP, JÄRVINEN H, AALTONEN L A, PELTOMÄKI P, de la CHAPELLE A. p53 codon 72 and MDM2 SNP309 polymorphisms and age of colorectal cancer onset in Lynch syndrome. *Clin Cancer Res*. 2005 Oct 1;11(19 Pt 1):6840-4.
- [124] SRIVASTAVA S. ZHIQIANG Z. PIROLLO K. BLATTNER W. CHANG E. Germ-line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone Family Li-Fraumeni syndrome. *Nature* 348, 27 dezembro 1990 747-749.
- [125] STARINSKY S, FINGER A, BEN-ASHER E, GEVA R, FLEX D, FIDDER HH, ZIDAN J, LANCET D, FRIEDMAN E. Genotype phenotype correlations in Israeli colorectal cancer patients. *Int J Cancer*. 2005 Mar 10;114(1):58-73.
- [126] STOREY A, THOMAS M, KALITA A, HARWOOD C, GARDIOL D, MANTOVANI F, BREUER J, LEIGH IM, MATLASHEWSKI G, BANKS L: Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998, 393:229-233.
- [127] TADA M, FURUUCHI K, KANEDA M, MATSUMOTO J, TAKAHASHI M, HIRAI A, MITSUMOTO Y, IGGO RD, MORIUCHI T. Inactivate the remaining p53 allele or the alternate p73? Preferential selection of the Arg72 polymorphism in cancers with recessive p53 mutants but not transdominant mutants. *Carcinogenesis*. 2001 Mar;22(3):515-7.
- [128] TALSETH BA, MELDRUM C, SUCHY J, KURZAWSKI G, LUBINSKI J, SCOTT RJ. Age of diagnosis of colorectal cancer in HNPCC patients is more complex than that predicted by R72P polymorphism in *TP53*. *Int J Cancer*. 2006b May 15;118(10):2479-84.
- [129] TALSTH BA, MELDRUM C, SUCHY J, KURZAWSKI G, LUBINSKI J, SCOTT

- RJ. MDM2 SNP309 T>G alone or in combination with the *TP53* R72P polymorphism does not appear to influence disease expression and age of diagnosis of colorectal cancer in HNPCC patients. *Int J Cancer*. 2006a Feb 1;120(3):563-5.
- [130] TALSTH BA, MELDRUM C, SUCHY J, KURZAWSKI G, LUBINSKI J, SCOTT RJ. Age of diagnosis of colorectal cancer in HNPCC patients is more complex than that predicted by R72P polymorphism in *TP53*. *Int J Cancer*. 2005 Dez 118, 2479-84. Ijc.21661.
- [131] TENGHOLM A. Cyclic AMP dynamics in the pancreatic β -cell. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 2012; 117: 355-369.
- [132] TERASAWA T. NISHIDA H. KATO K. MIYASHIRO I. TAKAKI Y. TAKAKU R. HAMASHIMA C. Prediction of gastric development by sérum pepsinogen test and helicobacte pylori seropositivity in eastern asians: a systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE* outubro 2014. e109783.
- [133] THEODORATOU E. *et al.* Systematic Meta-analyses and Field Synopsis of Genetic Association Studies in Colorectal Cancer. Oxford University Press. 2012. 104:1433-57.
- [134] TOMLINSON IPM. HOULSTON RS. MONTGOMERY GW. Investigation of the effects of DNA repair gene polymorphisms on the risk of colorectal cancer. *Journal Mutagenesis* vol.27 no.2 pp. 219-223, 2012.
- [135] TOMLINSON IPM. Colorectal cancer genetics: from candidate genes to GWAS and back again. *Journal Mutagenesis* vol.27 no.2 pp. 141-142, 2012.
- [136] VARLEY J.M. Germline *TP53* mutations and Li-Fraumeni syndrome. *Human Mutation* 2003. 21:313-320.
- [137] VOGELSTEIN, B., SUR, S. & PRIVES, C. p53: The Most Frequently Altered Gene in Human Cancers (2010) .*Nature Education* 3(9):6
- [138] WANG J. GUO X. ZHANG J. *et al.* Cyclooxygenase-2 polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer: a meta-analysis. *Yonsei Med Journal* 54(6):1353-1361, 2013.
- [139] WEITZEL JN: Genetic cancer risk assessment. Putting it all together. *Cancer* 86:2483,1999. PMID 10630174
- [140] WHIBLEY C, PHAROAH PD, HOLLSTEIN M: p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer* 2009, 9:95-107.
- [141] WHO Disponível em: <<http://www.who.int/library/databases/en/>> acesso: 15 Dez. 2013.
- [142] XU Z. ZHANG L. CAO H. BAI B. Mir-146a rs2910164 G/c polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis. *BioMed Central* outubro 2014. 15:117.
- [143] YAMAGUCHI K, SUGANO K, FUKAYAMA, *et al.* Polymerase chain reaction-based approaches for detection of allelic loss in the p53 tumor suppressor gene in colon neoplasms. *Am J Gastroenterol*, 1997. 92, 307-312
- [144] YU, J., ZHANG, L., *et al.* PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal

cancer cells. (2001). *Molecular Cell* 7,673–682

- [145] ZAHA A. FERREIRA HB. PASSAGLIA LMP. *Biologia molecular básica*, 4ª Ed. 2012. Armed. Porto Alegre-RS.
- [146] ZEILSTRA J. JOOSTEN SPJ. VERMEULEN L. et al. CD44 expression in intestinal epithelium and colorectal cancer is independent of p53 Status.
- [147] ZHANG H. QI J. WU Y. ZHANG P. JIANG J. WANG Q. ZHU Y. Accuracy of early detection of colorectal tumours by stool methylation markers: a meta-analysis. *World journal of gastroenterology*. Outubro 2014 vol. 20, 14040-14050.
- [148] ZHENG B. WANG Z. CHAI R. NQ01 C609T polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a meta-analysis. *AMS-Arch Med Sci* 2014 vol.10,4:651-660.
- [149] ZHU ZZ, LIU B, WANG AZ, JIA HR, JIN XX, HE XL, HOU LF, ZHU GS. Association of p53 codon 72 polymorphism with liver metastases of colorectal cancers positive for p53 overexpression. *J Zhejiang UnivSci B*. 2008 Nov;9(11):847-52.
- [150] ZHU ZZ, LIU B, WANG AZ, JIA HR, JIN XX, HE XL, HOU LF, ZHU GS. Association of the *TP53* codon 72 polymorphism with colorectal cancer in a Chinese population. *Jpn J ClinOncol*. 2007 May;37(5):385-90.