

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO R72P NO GENE TP53 E C677T /
A1298C DO GENE DA METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE
(MTHFR) EM MULHERES JUDIAS ASHKENAZI DE PORTO ALEGRE

Isabel Cristina Bandeira da Silva

ORIENTADOR: **Prof^a. Dra. Sandra Leistner Segal**

Dissertação de Mestrado

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO R72P NO GENE TP53 E C677T /
A1298C DO GENE DA METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE
(MTHFR) EM MULHERES JUDIAS ASHKENAZI DE PORTO ALEGRE

ISABEL CRISTINA BANDEIRA DA SILVA

ORIENTADOR: **Prof^a. Dra. Sandra Leistner Segal**

Dissertação de Mestrado

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre, Brasil

2011

Ficha catalográfica

Bandeira da Silva, Isabel Cristina
Prevalência do polimorfismo R72P no gene TP53 e
C677T / A1298C do gene da Metilenotetrahidrofolato
redutase (MTHFR) em mulheres judias Ashkenazi de
Porto Alegre / Isabel Cristina Bandeira da Silva. --
2011.
132 f.

Orientadora: Sandra Leistner Segal.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2011.

1. TP53. 2. MTHFR. 3. Ashkenazi Jewish. I.
Leistner Segal, Sandra, orient. II. Título.

*Há cento e cinquenta mil anos atrás
No colo da Mãe África
Éramos todos negros
Sem dinheiro e sem pátria
Uns foram pro norte outros foram pro sul
Esqueceram do vovô macaco
Branco pretos japoneses árabes hindus mulatas judeus
Todos feitos à mesma imagem pelo amor do mesmo Deus
Há cento e cinquenta mil anos atrás.
E os cientistas norte-americanos, depois de gastar zilhões de Dólares e trocentos
anos, chegaram a estupefaciente conclusão de que geneticamente falando, não são
muito diferentes, vermes, vacas e humanos.
Nós somos todos
Farinha do mesmo saco*

Carlos Maltz – Farinha do mesmo saco

AGRADECIMENTOS

Ao Dr Henrique Mesquita de Figueiredo, por salvar minha vida e permitir que hoje eu esteja aqui concretizando esta etapa tão importante

À Dra Sandra Leistner Segal, pela oportunidade, por sua confiança, dedicação e ajuda de sempre

À Gabriel de Souza Macedo, pela sua preciosa contribuição, pois se não fosse por sua ajuda, nada disso teria sido possível

À minha família, em especial à minha mãe, meu pai, minha irmã Cristiane, tias Zilda e Marlene, tio Homero, à minha cunhada Sheila, meus irmãos e sobrinhos e todos os demais pela valorosa contribuição e apoio em todos os meus planos. Ao meu primo Sidnei, que foi o primeiro a acreditar que eu deveria me dedicar à ciência

Ao Dr Carlos Henrique Menke, pela confiança e disponibilização do laboratório

Às participantes do estudo, pela valorosa contribuição, não apenas pela disponibilização do material genético, mas pela paciência em responder aos questionários, às correspondências, sempre de forma interessada e amistosa

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela disposição a ajudar e esclarecer dúvidas que surgiram durante essa caminhada, procurando sempre auxiliar para que tudo fosse resolvido da forma mais eficiente possível

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM), por me aceitarem nas disciplinas que eu tinha interesse e, um agradecimento em especial à Elmo Cardoso e Ellen Oliveira, pela valorosa ajuda. Um agradecimento especial a Sídia Callegari-Jacques, por seu primoroso auxílio nas análises estatísticas.

Ao Fipe-HCPA, pelo valioso apoio financeiro, um agradecimento especial a Marta Dotto, por toda sua ajuda, paciência e esclarecimentos.

À CAPES, pela bolsa de mestrado concedida, que foi de vital importância para que o sonho da conclusão do mestrado se tornasse realidade

À consultora estatística Vânia, por sua importante contribuição nas análises.

Aos amigos do HCPA, Everaldo, Jéferson, Luís, Vanessa e “Fernandas” pela amizade, apoio, pelos momentos de descontração na hora do café, completamente necessários para o bom andamento de qualquer trabalho

À Raquel Santos de Almeida, amiga incondicional, pessoa valorosa, de vital importância na minha vida, responsável direta por todas as minhas realizações, seus conselhos e ajuda fez toda a diferença

À Taiana Valente Tubino, minha co-orientada, pessoa iluminada, que me ajudou sempre, da melhor forma possível, é responsável direta pela realização deste trabalho

A Rafael Rebelo e Silva, Thiago Aley Brites de Freitas, Thais Santa Rita, Juliana Allenbrand Becker, Andressa Bertoluzzi, Francyne Kubaski, Aline Bochernitsan e Soraia Poloni pela grande amizade que construímos, pela ajuda, apoio, enfim, por todos os momentos inesquecíveis que passamos juntos

Às colegas do Laboratório de Biologia Molecular, pelo companheirismo.

Agradecimento especial a Crisle Vignol Dillenbourg e Márcia Portela de Melo, pela oportunidade de trabalhar em seus projetos de mestrado

Aos amigos de sempre Ana Cristina Antônio, Andresa Carra, Caiusa Boniatti, Daniela Pinheiro, Elenice Machado Peixoto Riger (e família), Gisele Ribeiro, Maria Marli Terterola, Samuel Maynard Bernini e Rodrigo Ludwig, pela amizade incondicional, aquela que dura pra sempre, que nunca esquecemos, permanece na nossa vida e, mesmo que um dia a distância venha a nos separar, o sentimento permanecerá intacto, pois fomos destinados a caminhar juntos nessa jornada e, a passagem de cada um pela minha vida, deixou uma linda marca, pra sempre!

Lista de Abreviaturas

Arg	Arginina
A1298C	Representação do polimorfismo no códon 429 (gene MTHFR)
B2	Riboflavina (vitamina)
B6	Piridoxina (vitamina)
B12	Cianocobalamina (vitamina)
<i>BRCA 1/2</i>	<i>Breast cancer gene 1/2</i>
CCC	Códon prolina
CGC	Códon Arginina
CBS	Cistationina- β -sintase
C677T	Representação do polimorfismo no códon 222 (gene MTHFR)
CIMP	<i>CpG island methylator phenotype</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
dUMP	Deoxiuridina 50-monofosfato
dMTP	Deoxitimidina 50-monofosfato
FOCM	<i>Folate-associated one-carbon metabolism</i>
G1 / S	Fases do ciclo celular
HapMap	<i>International Haplotype Map</i>
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IARC	International Agency for Research on Cancer
LOH	<i>Loss of heterozygosity</i> (perda de heterozigosidade)
MeTHF	Metilnotetrahidrofolato
<i>MTHFR</i>	Metilnotetrahidrofolato redutase
<i>MTRR</i>	Metionina sintase redutase
<i>MTR</i>	Metionina sintase
Pro	Prolina
p53	proteína p53
PCR	Reação em cadeia da polimerase
P	Representação do alelo Prolina
R	Representação do alelo Arginina
R72P	Representação do polimorfismo no códon 72 (gene <i>TP53</i>)
SAM	S-adenosil metionina sintetase
<i>TP53</i>	Gene supressor tumoral <i>TP53</i> (<i>Tumor Protein p53</i>)

Lista de tabelas

Tabela 1. Incidência e características das principais desordens genéticas comuns em Judeus Ashkenazi	20
Tabela 2. Taxas brutas de incidência de novos casos de câncer por 100.000 mulheres, segundo localização primária*, para o ano de 2010	27
Tabela 3. Frequência do polimorfismo R72P em estudos de caso-controle em câncer de mama em diferentes populações.....	34
Tabela 4. Polimorfismos de MTHFR (C677T e A1298C) em estudos de caso-controle em diferentes populações, em pacientes com câncer de mama.....	44

Lista de figuras

- Figura 1.
Estimativa mundial de novos casos de câncer e mortalidade em mulheres por tipos de câncer e nível de desenvolvimento econômico, 2008 24
- Figura 2.
Incidência dos casos de câncer no mundo, considerando apenas as mulheres, de todas as idades (estimativas para 2008) 25
- Figura 3.
Tipos de câncer mais incidentes na população brasileira em 2010 (exceto pele não melanoma) 25
- Figura 4.
Mapa das taxas brutas de incidência de câncer por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2010, segundo a Unidade da Federação (todas as neoplasias, exceto pele não melanoma) 26
- Figura 5.
Rota de p53 e supressão tumoral mediada por p53 28
- Figura 6.
Uma visão simplificada da via do metabolismo do folato e dos alvos da principal fluoropirimidina e agentes antifolato 37

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO	13
REVISÃO DA LITERATURA	15
1. Judeus Ashkenazi: História e demografia	15
1.1. A importante contribuição da população judaica Ashkenazi nos estudos de genética de populações humanas	16
1.2. Judeus Ashkenazi versus suscetibilidade a doenças	18
1.3 Judeus Ashkenazi versus suscetibilidade ao câncer	20
2. Epidemiologia do câncer	23
3. Gene supressor tumoral <i>TP53</i>	27
4. Gene <i>MTHFR</i> e sua contribuição nos estudos genéticos	35
4.1. Atuação dos polimorfismos C677T e A1298C de <i>MTHFR</i> na suscetibilidade ao câncer	39
4. OBJETIVOS	46
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
6. MANUSCRITO 1	86
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	114
8. ANEXOS	
8.1. Termo de consentimento	115
8.2. Ficha de coleta de dados	116
9. Produção científica no período	
9.1. MANUSCRITO 2	118

RESUMO

A suscetibilidade ao câncer se apresenta com diferentes frequências em diferentes populações. Dentre muitas das estudadas está a população judaica Ashkenazi, que vêm sendo alvo de muitos trabalhos por apresentarem doenças genéticas em proporção maior do que seria esperado para outra população qualquer. Tal incidência provavelmente advém do fato de terem sofrido dois grandes *bottlenecks* ao longo de sua história, gerando um efeito fundador que seria responsável pela alta incidência de doenças genéticas. O gene *TP53* tem papel importante em um grande número de processos celulares e o polimorfismo Arg72Pro (R72P) deste gene leva a diferenças funcionais em atividades biológicas e bioquímicas, o que parece estar intimamente ligado ao câncer de mama. Da mesma forma, acredita-se que a variação genética de genes para metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*), enzima essencial no metabolismo um-carbono, pode alterar os níveis de metilação do DNA e influenciar a carcinogênese. Buscou-se então verificar qual a prevalência do polimorfismo R72P e dos polimorfismos de *MTHFR* (A1298C e C677T) em mulheres judias Ashkenazi de Porto Alegre. Para isto, foi utilizado material biológico proveniente de 255 mulheres Ashkenazi residentes na cidade de Porto Alegre e 255 amostras de um grupo controle de doadores saudáveis do hospital de clínicas de Porto Alegre, para amplificação das regiões de interesse através da técnica de PCR seguida por digestão com enzimas de restrição específicas. O polimorfismo R72P mostrou uma frequência genotípica de ~61% Arg/Arg, ~37% Arg/Pro e ~2% Pro/Pro nas mulheres judaicas Ashkenazi; em comparação com a amostra controle que mostrou uma frequência genotípica de ~43% Arg/Arg, ~44% Arg/Pro e 13% Pro/Pro. Com relação aos polimorfismos de *MTHFR*, obteve-se os seguintes resultados para judias e controles, respectivamente: 677CC (31 e 42%), 677CT (47 e 48%), 677TT (22 e 10%), 1298AA (49,4 e 60%), 1298AC (43,1 e 35%) e 1298CC (7,5 e 5%). Os resultados estatísticos mostraram-se significativos para as frequências alélicas e genotípicas ($P < 0,001$ para R72P; $P = 0,000$ para C677T e $P = 0,041$ para A1298C). Ampliar e diversificar as amostras se faz necessário para avaliar consistentemente como a influência das diferenças étnicas e raciais podem afetar os resultados dos estudos, além de aspectos como alimentação, fumo, hábito de beber, casamentos consanguíneos, entre outros, devem ser considerados nas análises de dados, buscando uma melhor resposta em relação às hipóteses levantadas e assim eliminando da análise possíveis fatores de confusão.

Palavras-chave: *TP53*, *MTHFR*, Câncer de mama, Judias Ashkenazi.

ABSTRACT

Cancer susceptibility is presented with different frequencies in different populations. Among the many populations studied, the Ashkenazi Jewish have been the subject of several scientific publications due to the greater proportion of genetic diseases observed than would be expected for any other population. This effect probably stands from the fact that they had suffered two major bottlenecks throughout its history, resulting in a founder effect that would be responsible for high incidence of genetic diseases. *TP53* gene has an important role in many cellular processes and the Arg72Pro (R72P) polymorphism of this gene leads to functional differences in biochemical and biological activities, which seems to be closely linked to breast cancer. It is also believed that the genetic variation of genes for methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*), an essential enzyme of the one-carbon metabolism, can alter levels of DNA methylation and influence carcinogenesis. We sought to determine how prevalent are R72P and *MTHFR* (C677T; A1298C) polymorphisms in a group of Ashkenazi Jewish women from Porto Alegre. For this, we used biological material from 255 Ashkenazi women living in Porto Alegre and 255 samples from a control group of healthy donors of Hospital de Clinicas de Porto Alegre, for amplification of interest regions by PCR followed by digestion with specific restriction enzymes. The R72P polymorphism showed a genotype frequency of ~ 61% Arg / Arg, ~ 37% Arg / Pro and ~ 2% Pro / Pro in the Ashkenazi Jewish, compared to the control sample which showed a genotype frequency of ~ 43% Arg / Arg, Arg ~ 44% / 13% Pro and Pro / Pro. Regarding the *MTHFR* polymorphisms we obtained the following results for Jewish and controls, respectively: 677CC (31 and 42%), 677CT (47 and 48%), 677TT (22 and 10%), 1298AA (49.4 and 60%), 1298AC (43.1 and 35%) and 1298CC (7.5 and 5%). The statistical results were significant for allele and genotype frequencies ($P < 0.001$ for R72P, $P = 0.000$ for C677T and A1298C to $P = 0.041$). Increasing the sample number and studying several worldwide populations is needed to consistently evaluate the influence of ethnic and racial differences which may affect the results obtained. In addition to that, aspects such as diet, smoking, drinking, consanguineous marriages, among others, should be considered in the data analysis in order to seek for a better response to the hypotheses raised, thus eliminating possible confounding factors.

Keywords: TP53, MTHFR, breast cancer, Ashkenazi Jewish

INTRODUÇÃO

O seqüenciamento completo do genoma humano em 2001 e a divulgação do HapMap (*International Haplotype Map*), tornou possível a identificação de marcadores moleculares de propensão a doenças, transformando completamente as perspectivas epidemiológicas. Igualmente importante têm sido o crescente conhecimento a respeito da genômica do câncer, com avanços significativos na compreensão de efeitos das mutações e polimorfismos, que permitem acompanhar o desenvolvimento deste grupo de doenças (Hartman *et al.*, 2010).

Estudos genômicos de associação emergiram como uma eficaz alternativa de identificação de polimorfismos comuns relacionados a características complexas implícitas (Carlson *et al.*, 2003; Yeager *et al.*, 2007; Hunter *et al.*, 2007a; Hunter *et al.*, 2007b; Yu *et al.*, 2008). Geralmente estes estudos são do tipo caso-controle, devido à eficiência na investigação de um grande número de variações genéticas, onde, segundo os princípios clássicos da epidemiologia, a distribuição dos fatores de risco nos controles deve ser a mesma da população dos casos analisados (Wacholder *et al.*, 1992; Yu *et al.*, 2008).

O gene *TP53* foi um dos primeiros supressores tumorais a ser descrito, e desempenha um papel fundamental na patogênese dos cânceres humanos. Essa classe de genes está relacionada com controle de crescimento, agindo no sentido de restringir ou suprimir a proliferação celular (Weinberg, 2008). O papel do gene *TP53* em muitos processos celulares, como transcrição, reparo de DNA, controle do ciclo celular e apoptose, fazem dele um importante marcador de suscetibilidade ao câncer (Thomas *et al.*, 1999). Dentre os vários polimorfismos identificados no gene *TP53*, um dos mais bem estudados é o Arg72Pro, localizado no códon 72 no éxon 4, levando a substituição arginina-prolina, a qual resulta em uma alteração estrutural da proteína (Pietsch *et al.*, 2006). Este polimorfismo resulta em duas isoformas, codificando tanto para arginina (CGC) quanto para prolina (CCC), causando diferenças funcionais (Thomas *et al.*, 1999).

MTHFR é uma enzima essencial no metabolismo de folato e homocisteína, catalizando a redução irreversível de 5,10-metilenoTHF a 5-metilenoTHF. Seu papel essencial no metabolismo um-carbono fornece uma forte evidência biológica de que uma variação na atividade da enzima pode influenciar o risco ao câncer (Blount *et al.*, 1997). Uma forma menos ativa de *MTHFR* pode causar um acúmulo de 5, 10-metilenoTHF, levando a possíveis falhas na incorporação de uracila, podendo estar

relacionado a um risco mais baixo ao câncer (Stern *et al.*, 2000). Por outro lado, a atividade reduzida de *MTHFR* reduz o nível de S-adenosil-L-metionina (doador de metila), afetando assim a metilação do DNA, o que pode estar ligado a um risco aumentado para câncer (Davis & Uthus, 2004; Ulrich *et al.*, 2005). Dentre os polimorfismos de *MTHFR*, estão as variantes mais comuns C677T e A1298C, que foram associados a uma redução da atividade enzimática, afetando assim a relação entre essa atividade e o risco de desenvolver câncer (Frosst *et al.*, 1995; Weisberg *et al.*, 2001).

A comunidade judaica contemporânea está estimada em 13 milhões de indivíduos, divididos em Ashkenazi e não-Ashkenazi, cada qual composto de inúmeras comunidades diferentes. O termo Ashkenazi se refere aos judeus cujos vestígios dos ancestrais do milênio passado são da Europa Central e Oriental (DellaPergola, 2001). Estudos genéticos baseados na história demográfica dos judeus Ashkenazi têm o potencial para resolver questões relativas ao nível dos efeitos na população de alelos de doença (Fay & Wu, 1999). Apesar de incertezas em relação a essa história demográfica dos judeus Ashkenazi e seus ancestrais, dados genéticos disponíveis revelam um efeito fundador resultando de um *bottleneck* severo no tamanho da população entre 1100 e 1400 DC e um *bottleneck* anterior em 75 DC, no começo da diáspora judaica (Slatkin, 2004). A frequência mais alta de alelos recessivos relacionados a doenças em judeus Ashkenazi é motivo de discussão sobre a contribuição da vantagem do heterozigoto bem como antigos efeitos fundadores (Risch *et al.*, 1995; Goldstein *et al.*, 1999). Um importante foco de pesquisas em relação aos judeus Ashkenazi é a predisposição desta população a doenças autossômicas recessivas, sendo a doença de Tay-Sachs uma das mais comuns. Devido a essas desordens serem mais prevalentes em judeus Ashkenazi do que em outras populações, concluiu-se que esse povo tem uma identidade genética única (Goodman, 1979; Motulsky, 1995; Aronson, 2001).

A compreensão do papel de fatores de risco ao câncer tem sido reforçada por estudos em diversos grupos étnicos, considerando vários tipos de tumores, como por exemplo, mama, ovário, intestino, entre outros. Além das diferenças genéticas, foram considerados fatores ambientais que podem estar relacionados com o desenvolvimento de câncer (Koifman *et al.*, 2001). Muito se pesquisou sobre genética e modo de vida relacionando com a suscetibilidade ao câncer na população judaica Ashkenazi, principalmente em relação ao câncer de mama, ovário e cólon (Struewing *et al.*, 1995; Modan *et al.*, 1996; Egan *et al.*, 1996; Struewing *et al.*, 1997;

Nelson *et al.*, 1998). Embora constituindo uma população relativamente pequena no mundo, o impacto dos estudos genéticos em judeus Ashkenazi leva a debates a respeito do risco aumentado de câncer nesta população e a triagens genéticas que ainda hoje são realizadas em amostras dessa população (Nelson *et al.*, 1998).

REVISÃO DA LITERATURA

1. Judeus Ashkenazi: História e demografia

O termo “Ashkenazi” se refere aos judeus de descendência europeia (Europa Central e Oriental), em contraste com os da Península Ibérica, Oriente Próximo e Norte da África, ditos judeus “Sefaradi”. Acredita-se que a população judaica Ashkenazi contemporânea descende de uma população fundadora que se originou no Oriente Médio e migrou para a Europa à aproximadamente dois milênios atrás (Goodman, 1979a; Ostrer, 2001). Considera-se que os judeus Ashkenazi tenham formado um ramo distinto do judaísmo nos séculos XIII e XIV na atual Polônia, Lituânia, Bielorrússia, Ucrânia e Rússia (Mourant *et al.*, 1978) e que os ancestrais dos judeus Ashkenazi descenderam em sua maior parte de populações judaicas da Alemanha (Weinryb, 1972).

Apesar da considerável incerteza a respeito da história demográfica dos judeus Ashkenazi e seus ancestrais, dados genéticos disponíveis são consistentes com um efeito fundador resultando de um bottleneck severo no tamanho da população entre 1100 e 1400 DC e um bottleneck anterior em 75 DC, no começo da diáspora judaica (Slatkin, 2004).

Um evento histórico importante na história dos judeus foram as Cruzadas, onde houve um longo período de ataques e destruição de comunidades judaicas. Antes das Cruzadas, populações judaicas da Alemanha, França e Inglaterra cresceram e foi estimado que teriam atingido cerca de 100,000 indivíduos, porém, esse número declinou em quase 50%, devido aos ataques e expulsão dos judeus desses países, por volta de 1300 DC. A “peste negra” também foi responsável por esse declínio populacional, já que em comunidades não judaicas, acreditava-se que os judeus eram responsáveis por esse evento, causando assim mais perseguições e mortes, no período entre 1347-1348 DC (Engleman, 1960; Risch, 2001; Fraikor, 1977). Por volta de 1500 DC, o tamanho da população judaica Ashkenazi no leste europeu foi estimada entre 10.000 a 20.000 indivíduos, a partir daí seguiu-se um

período de crescimento populacional a uma taxa de aproximadamente 40% por geração até 1900 DC. Esse crescimento foi interrompido pelo “massacre dos Cossacos” em 1648, que resultou na morte de aproximadamente 25% da população judaica Ashkenazi (Weinryb 1972; Risch *et al.*, 1995a). Registros históricos apresentam apenas estimativas de tamanhos populacionais, já que nesse período não haviam recursos para fazer essas estimativas com acurácia.

Os judeus migraram intensamente durante várias gerações e houve uma drástica redução de sua população durante eventos históricos como o Holocausto, por exemplo, causando assim uma redistribuição geográfica de longo alcance dessa população. Muitos grupos que se dispersaram passaram a se caracterizar pelo ambiente onde chegavam, cerca de 70% dos judeus da época da Diáspora (aproximadamente 80% do total mundial de judeus) se instalaram em regiões das Américas, África do Sul, Austrália, Israel, entre outros países. Por outro lado, muitas regiões antes habitadas por judeus, estão atualmente praticamente sem eles, por exemplo, grande parte da Europa Oriental, países da Ásia, Norte da África, entre outros. O povo judeu tem um longo histórico de migrações, isso tem sido bem mais visível no último século, onde se observou uma redistribuição mundial da população judaica (Schmelz, 1981).

Desde os tempos que compreenderam o período da Segunda Guerra Mundial, as principais causas de mortes entre os judeus Ashkenazi foram violência ou de natureza infecciosa, sendo a tuberculose e influenza as mais comuns (Ruppin, 1934). É muito difícil se ter dados precisos desta época em relação aos judeus, já que uma das poucas referências de censo populacional diz respeito a dados religiosos que foram utilizados como características demográficas da população (Feldman, 2001).

Atualmente, judeus Ashkenazi compreendem aproximadamente 80% dos 13-14 milhões de judeus no mundo, a maioria vivendo nos EUA e Israel (Motulsky, 1995). No Brasil, de acordo com o censo de 1991, houve um declínio da população judaica que, em 1981 era de 94.000 indivíduos e, dez anos depois, foi estimada em 87.000 pessoas (DellaPergola, 2003). A população judaica no Rio Grande do Sul, segundo censo de 2004, era de 9.000 indivíduos, ficando em terceiro lugar entre os locais com mais judeus no Brasil, perdendo apenas para o Rio de Janeiro e São Paulo. A comunidade judaica se estabeleceu em Porto Alegre por volta de 1910, onde fundaram o Centro Israelita Porto-Alegrense (1917), Centro Hebraico Rio-Grandense (1922), Colégio Israelita Brasileiro (1922), Grêmio Esportivo Israelita

(1929), Círculo Social Israelita (1930), Clube Campestre (1958), Federação Israelita do Rio Grande do Sul (1961) entre muitas outras conquistas desse povo no estado do Rio Grande do Sul (Brumer, 1994; Nicolaiewsky, 1984; Gutfreind, 2004; Wainberg, 2004; Lesser, 1989).

1.1. A importante contribuição da população judaica Ashkenazi nos estudos de genética de populações humanas

Os estudos de prevalência de fatores genéticos na população, somados em muitos casos à análise de fatores ambientais, são de suma importância para a compreensão da gênese de várias doenças, buscando-se uma correlação com origens étnicas e história familiar, considerando também os vínculos sociais e genéticos dos componentes das comunidades estudadas. A população judaica se enquadra nesse perfil, sendo alvo de muitos estudos que buscam elucidar esses processos relacionados ao surgimento de doenças, bem como fornecer dados epidemiológicos que possam enriquecer o panorama da genética populacional (Cuperschmid, 1977; Pfeffer, 1993).

Embora os alelos associados a doenças sejam provavelmente não neutros, mesmo alelos levemente deletérios podem aumentar em frequência devido ao efeito fundador. Tanto o efeito fundador quanto a vantagem do heterozigoto foram ditos como sendo responsáveis por muitos alelos associados a doenças na população judaica Ashkenazi (Risch, 2001). Um efeito fundador pode resultar tanto de um evento fundador, ou seja, o estabelecimento de uma nova população de indivíduos provenientes de uma população muito maior ou de uma redução drástica no tamanho da população (*bottleneck*). Em ambos os casos, os alelos presentes em um exemplar imediatamente após o evento fundador ou gargalo podem ser encontrados em uma frequência muito maior do que eram e podem alcançar altas frequências devido à deriva genética que ocorre enquanto a população ainda é pequena. Efeito fundador tem sido usado para explicar a alta frequência de doenças mendelianas em muitas populações isoladas (Thompson & Neel, 1996; Vogel & Motulsky, 1996).

Bottlenecks podem alterar muito as frequências alélicas e reduzir a heterozigosidade em relação a uma população ancestral. Os judeus Ashkenazi sofreram uma redução efetiva no tamanho populacional devido a sua história de dispersão e endogamia por várias gerações e há evidências de acentuada deriva genética que vem da distribuição de alelos recessivos relacionados a doenças, que

estão em alta frequência na população judaica Ashkenazi. Estudos de mtDNA mostram que há uma grande redução na diversidade das populações judaicas Ashkenazi (Behar *et al.*, 2004).

A população judaica Ashkenazi é uma excelente candidata a estudos genéticos, devido a dois fatores, o primeiro deles diz respeito a demografia desse povo, eventos evolutivos ocorridos, como Bottlenecks, migrações e expansões pelo mundo (DellaPergola, 2001; Ostrer, 2001). O segundo ponto é o acúmulo de aproximadamente 120 doenças recessivas restritas a essa população e as explicações propostas para esse fato alimentam debates no mundo científico a muitos anos sobre uma possível vantagem do heterozigoto ou ainda sobre a deriva de alelos recessivos causadores de doenças seguido pela expansão do povo judeu em algum evento fundador (Diamond, 1994; Risch *et al.*, 1995; Ostrer, 2001).

O risco associado a certos genótipos pode variar de acordo com a etnia. Isso pode estar relacionado ao ancestral genético onde o fator de risco ocorre (Christensen *et al.*, 2008; Lee, 2009). Fatores sociais e culturais, bem como ambientais, podem estar envolvidos com a “raça fenotípica” dos indivíduos, mostrando a importância de estudar os efeitos das variações de risco em populações miscigenadas, com ancestralidades geográficas e ambientes diferentes (Cooper *et al.* 2008; Behar *et al.* 2010).

As diferenças genéticas entre as populações humanas levam a um grande debate sobre o conceito de “raça” e sua validade em classificações. Apesar de muitos pesquisadores argumentarem a favor dos estudos de interação entre genética, sociedade e ambiente e a contribuição desses fatores na ocorrência de doenças e possível interação com a resposta a tratamentos, muitos discordam e acreditam que a identidade racial é uma construção social que pode desorientar a classificação de participantes de estudos de investigação (Risch *et al.*, 2002; Burchard *et al.*, 2003; Burchard *et al.*, 2005; Anonymous, 1998; Anonymous, 2001; Schwartz *et al.*, 2001; Cooper *et al.*, 2003).

1.2. Judeus Ashkenazi versus suscetibilidade a doenças

Estudos genéticos baseados na demografia das comunidades judaicas Ashkenazi têm o potencial para resolver questões relativas à contribuição dessa população em nível de efeitos sobre as origens e frequência dos alelos relacionados a doenças. Regiões como mtDNA e a porção não-recombinante do cromossomo Y

(NRY) são bastante sensíveis à deriva genética, sendo muito úteis para detectar os efeitos dos Bottlenecks nas populações Ashkenazi (Fay & Wu, 1999).

Períodos prolongados onde temos uma baixa taxa de crescimento em uma população pode levar a um acúmulo de mutações deletérias no genoma. Pequenas populações provenientes de grandes populações ancestrais nem sempre serão capazes de neutralizar essas mutações deletérias na dinâmica populacional, o que pode ser uma das causas da segregação de mutações que podem levar a doenças em judeus Ashkenazi (Ohta, 1973).

Os judeus Ashkenazi são vistos como uma população geneticamente isolada, mantendo-se separados das demais populações por suas práticas religiosas e culturais e também pelas relações endogâmicas (Ostren, 2001). As populações que se enquadram nessas características de isolamento são bastante requisitadas em pesquisas genéticas pois se supõe que há uma redução da diversidade genética e conseqüente aumento de desordens genéticas recessivas e desequilíbrio de ligação como resultados de processos evolutivos, como efeito fundador e *bottlenecks* (Arcos-Burgos & Muenke, 2002; Peltonen *et al.*, 2000).

Já se sabe que alelos específicos podem causar doenças de início tardio e outros podem predispor a doenças, atuando conjuntamente com fatores genéticos e ambientais. Os judeus Ashkenazi estão sujeitos a uma série de condições herdáveis, incluindo câncer, desordens bioquímicas, doenças sangüíneas, neuropatologias, além de doenças lisossômicas de depósito. Considerar que o aumento das freqüências de alelos mutantes comuns é devido a uma “vantagem do heterozigoto” não é totalmente convincente, visto que grande parte dos distúrbios genéticos que acometem os judeus Ashkenazi não podem ser explicados por esse evento (Charrow, 2004; Risch *et al.*, 2003).

Algumas doenças muito comuns entre os judeus Ashkenazi são a doença de Gaucher, afetando, mais precisamente, 1 em 400–1000 Ashkenazi; fibrose cística, afetando aproximadamente 1 em 2500, e outras doenças raras que não apresentam estimativas disponíveis, como por exemplo Mucopolidose do tipo IV. A tabela 1 mostra algumas doenças comuns em judeus Ashkenazi com suas respectivas incidências e freqüências. Genes envolvidos na predisposição ao câncer também são intensamente estudados nesta população; muitos desses genes podem estar diretamente envolvidos no desenvolvimento de câncer, outros podem apenas predispor e ainda há os que estão relacionados com outras alterações genéticas, ou

ainda com fatores ambientais antes de manifestar um fenótipo de câncer (Charrow, 2004).

Estudiosos precisam estar conscientes da relação histórica entre o status socioeconômico e a ancestralidade e o quanto esses fatores podem influenciar no desenvolvimento de doenças. Negligenciar as informações sobre fatores socioeconômicos nos estudos pode levar a associações entre ancestralidade e fenótipos de doenças que podem ser confundidos com fatores não-genéticos (Cooper et al., 2003). Mesmo após ajustados os fatores de confusão, é importante ter cuidado nas interpretações entre ancestralidade e doenças, pois outros fatores ambientais não mensuráveis podem estar envolvidos nessa relação (Rodriguez, 1990).

A aplicabilidade da estimativa de ancestralidade genômica é um marco para o futuro das investigações biomédicas, assim como o seqüenciamento do genoma humano, somado a relações entre fatores sociais e ambientais, fatos que tornaram possível estimar riscos genéticos e ambientais para doenças comuns, bem como possibilitaram personalizar tratamentos, remédios e aconselhamento especializado, porém sempre surgirão novos questionamentos a respeito de todas essas novidades (Via et al., 2009).

Tabela 1: Incidência e características das principais desordens genéticas comuns em Judeus Ashkenazi. (Adaptado de Charrow et al., 2004).

Doença	Efeitos	Incidência da doença	Frequência de portadores	Taxa de detecção de portadores em Ashkenazi (%)
Síndrome de Bloom	Alto risco para malignidade	1:40.000	1:110	95-97
Doença de Canavan	Neurodegeneração	1:6.400	1:38	98
Distonia	Desordem de movimentos	Desconhecido	1:900	98
Disautonomia familiar	Neurodegeneração	1:3.700	1:30	99
Anemia de Fanconi (Tipo C)	Alto risco para malignidade	1:32.000	1:89	99
Doença de Gaucher (Tipo I)	Trombocitopenia, anemia e doença óssea	1:900	1:10	95
Mucopolidose IV	Neurodegeneração	Desconhecido	1:100	95
Doença de Niemann-Pick (Tipo A)	Neurodegeneração	1:32.000	1:70	95
Doença de Tay-Sachs	Neurodegeneração	1:3.000	1:26-30	94-98
Fibrose Cística	Doença pulmonar, malabsorção	1:2.500	1:25-29	97
DFNBI (Surdez congênita)	Surdez	6:10.000	1:20	95
Hiperplasia adrenal não clássica	Virilização	1:27	1:3	95

1.3 Judeus Ashkenazi *versus* suscetibilidade ao câncer

Uma das doenças que mais causa mortes no mundo atualmente é o câncer, que surge como consequência de alterações no material genético e parece estar dirigido por mutações. Mutações somáticas desempenham um importante papel na progressão da carcinogênese, mas ainda não estão completamente identificadas em muitos tipos de câncer (Jorde *et al.*, 2000; Kopnin *et al.*, 2000; Sjöblom *et al.*, 2006; Croce, 2008;).

Muitos genes podem estar envolvidos nos processos de desenvolvimento de câncer, os principais tipos são os oncogenes (*ras*, *myc*, por exemplo), que são proto-oncogenes mutados que podem causar uma perda do controle inibitório, aumentando o número de mitoses, por exemplo, e, ocorrendo isto, pode haver o início do processo do desenvolvimento de câncer; genes supressores de tumor (*TP53*, *APC*, entre outros), que são ditos “anti-oncogenes”, inibindo a proliferação celular, eles são frequentemente inativados por mutações que causam perda de função, permitindo o desenvolvimento de câncer (Ponder, 2001; Rocha & Silva, 2003) e genes de reparo do DNA, que permitem uma replicação de DNA impecável, mas quando há defeitos nos mecanismos de reparo, ocorre uma instabilidade no genoma, que leva a anormalidades nos cromossomos, como quebras ou número anormal e também a mutações em geral, sendo essas falhas importantes na proliferação celular e carcinogênese (Jorde *et al.*, 2000; Rocha & Silva, 2003; Gabriel, 2007).

A variedade de opiniões a respeito das alterações genéticas em células tumorais levam a novas descobertas, que podem contribuir no diagnóstico e tratamentos diferenciados, isso inclui detectar mutações em regiões codificadoras, rearranjos cromossômicos, perdas ou ganhos genômicos, metilação aberrante, perfis de expressão, entre outros fatores que são estudados intensamente com o propósito de elucidar muitas dúvidas referentes ao processo de carcinogênese (Elledge & Hannon, 2005; Varmus, 2006; Heng, 2007; Collins *et al.*, 2007).

As dificuldades em se fazer estimativas em relação aos casos de câncer nos judeus Ashkenazi e em caracterizar a verdadeira origem étnica desses indivíduos, impedem que se façam afirmações a respeito de riscos. Não há dados publicados com incidência de câncer para judeus Ashkenazi, mas alguns dados podem ser consultados considerando os índices estimados em judeus israelenses nascidos na Europa ou nas Américas. Esses dados mais gerais sugerem que, os judeus

Ashkenazi, podem ser um dos poucos grupos étnicos em que a incidência de câncer é mais alta em mulheres do que em homens (Modan *et al.*, 1996; Egan *et al.*, 1996; Parkin *et al.*, 1997; Nelson, 1998; Arnold, 1998).

Muitos problemas complexos puderam ser elucidados devido ao grande progresso da genética e da biologia molecular, que permitiu que se conhecessem as bases genéticas de muitas doenças, em especial a genética do câncer, que vem sendo estudada há anos com grande sucesso (Vogelstein & Kinzler, 1998; Balmain *et al.*, 2003).

As mutações comuns nos genes *BRCA1* e *BRCA2* parecem estar fortemente relacionadas aos casos de diversos tipos de câncer ocorridos em indivíduos judeus Ashkenazi (Struwing *et al.*, 1997). Judeus Ashkenazi que tenham essas mutações são mais propensos a apresentar história pessoal de câncer e a história familiar pode ser um bom preditivo de risco em judeus Ashkenazi a desenvolver vários tipos de câncer do que em outras populações (Modan *et al.*, 1996; Lalloo *et al.*, 1998). Variantes genéticas em outros genes recebem atenção como possíveis modificadores em relação ao risco de desenvolver câncer, como é o caso do gene *TP53*, devido a sua relação com processos celulares importantes como o controle do ciclo celular, reparo de DNA e apoptose e ainda uma possível interação com *BRCA1* e *BRCA2* (Cheung *et al.*, 2004; Jonkers *et al.*, 2001; Ongusaha *et al.*, 2003).

A possível influência da atividade de *MTHFR* na metilação do DNA e na disponibilização de nucleotídeos para síntese e reparo do DNA faz dele um forte candidato a gene de predisposição ao câncer. Há uma hipótese de que polimorfismos em enzimas relacionadas ao metabolismo do folato afetam a metilação de DNA e alteram a disponibilidade de nucleotídeos para síntese e reparo de DNA (Chen *et al.*, 1999; Potter, 1999; Stempak *et al.*, 2005). Baixos níveis de folato podem causar uma instabilidade no genoma, retardando o mecanismo de reparo do DNA em danos provocados por oxidação ou alquilação e favorecendo a hipometilação do DNA, sendo que todos esses fatores podem estar envolvidos na carcinogênese (Kim *et al.*, 1999; Wainfan *et al.*, 1992; Sanjoaquin *et al.*, 2005; Shrubsole *et al.*, 2004).

Antes dos avanços das técnicas de biologia molecular, estimava-se que polimorfismos ocorriam em aproximadamente 30% dos genes humanos e que os indivíduos são heterozigotos em aproximadamente 7 a 10% dos casos (Harris, 1966). Atualmente sabe-se que em praticamente todos os genes descritos ocorrem

polimorfismos. Enquanto a heterozigose para um polimorfismo que inativa o produto gênico pode ser considerado um tipo benigno, quando em homozigose e resultando na perda total da função do produto gênico, pode ser maléfico, pois esses polimorfismos e mutações podem ser transmitidos silenciosamente de geração em geração, se manifestando apenas quando dois indivíduos carregam os mesmos alelos de certa doença e geram uma prole afetada, sendo o risco para que essa transmissão aconteça de aproximadamente 25% (Charrow *et al.*, 2004).

Identificar anormalidades genéticas é importante não apenas para a saúde do indivíduo, mas também para membros da família, especialmente quando há indícios de risco para alguma dessas anormalidades; isso indica que o aconselhamento genético e exames são necessários para que haja compreensão desses resultados e o quanto eles podem afetar a saúde do indivíduo (Charrow *et al.*, 2004). Apesar da grande quantidade de genes identificados como relacionados ao câncer, esse trabalho enfocará apenas os genes *TP53* e *MTHFR* e os respectivos polimorfismos estudados.

2. Epidemiologia do câncer

O câncer é uma das enfermidades de maior impacto no mundo todo, sendo a segunda maior causa de mortes, perdendo apenas para doenças cardiovasculares. Esse impacto é bem mais perceptível em países de médio e baixo desenvolvimento, especialmente na América Latina (INCa 2010; Gallo *et al.*, 2005).

Muitas mudanças ocorreram durante os últimos 30 anos em relação a epidemiologia do câncer. Para o ano de 2008, eram esperados mais de 12 milhões de novos casos de câncer diagnosticados, 7 milhões de mortes provocadas por câncer e 25 milhões de pessoas com câncer ainda sem diagnóstico. O constante crescimento e envelhecimento da população também vão afetar as estatísticas do câncer. Estima-se que em 2030 haverá 27 milhões de casos de câncer diagnosticados, 17 milhões de mortes por câncer anualmente e 75 milhões de pessoas vivendo com câncer em um prazo de 5 anos de diagnóstico (Boyle & Levin, 2008). A figura 1 mostra o número de casos de câncer por tipo e mortalidade em mulheres, considerando estimativas mundiais e regionais (países desenvolvidos e em desenvolvimento). O tipo de câncer mais incidente entre as

mulheres é o de mama, em todas as áreas consideradas, sendo a maior causa de mortes entre todos os tipos de tumor.

Muitas vezes os casos de câncer são associados com fatores como alimentação, baixa atividade física, fumo, consumo de álcool, entre outros, pois muitos desses casos refletem a interação com desnutrição, exposição a algum fator ambiental, entre muitas outras razões que podem estar relacionadas. Todas essas razões tornam muito difícil se desenvolver políticas de saúde em relação à prevenção, detecção e monitoramento dos casos de câncer, principalmente considerando que todas essas tendências estão mudando rapidamente. Outros elementos fundamentais a serem considerados são a suscetibilidade genética e as variadas etnias, muitas delas afetadas por eventos evolutivos, como efeito fundador, que pode explicar a concentração local ou regional de cânceres relativamente raros (Boyle & Levin, 2008; Gallo et al., 2005). A figura 2 mostra as estimativas de casos de câncer em mulheres, por continentes, onde se destacam a Ásia e a Europa com as maiores incidências, mas vale ressaltar que essa maior estimativa para essas regiões também pode estar relacionada ao fato de serem áreas geográficas maiores e mais populosas. A América Latina e o Caribe representam 7,6% da incidência de câncer entre as mulheres, apresentando mais de 450.000 casos.

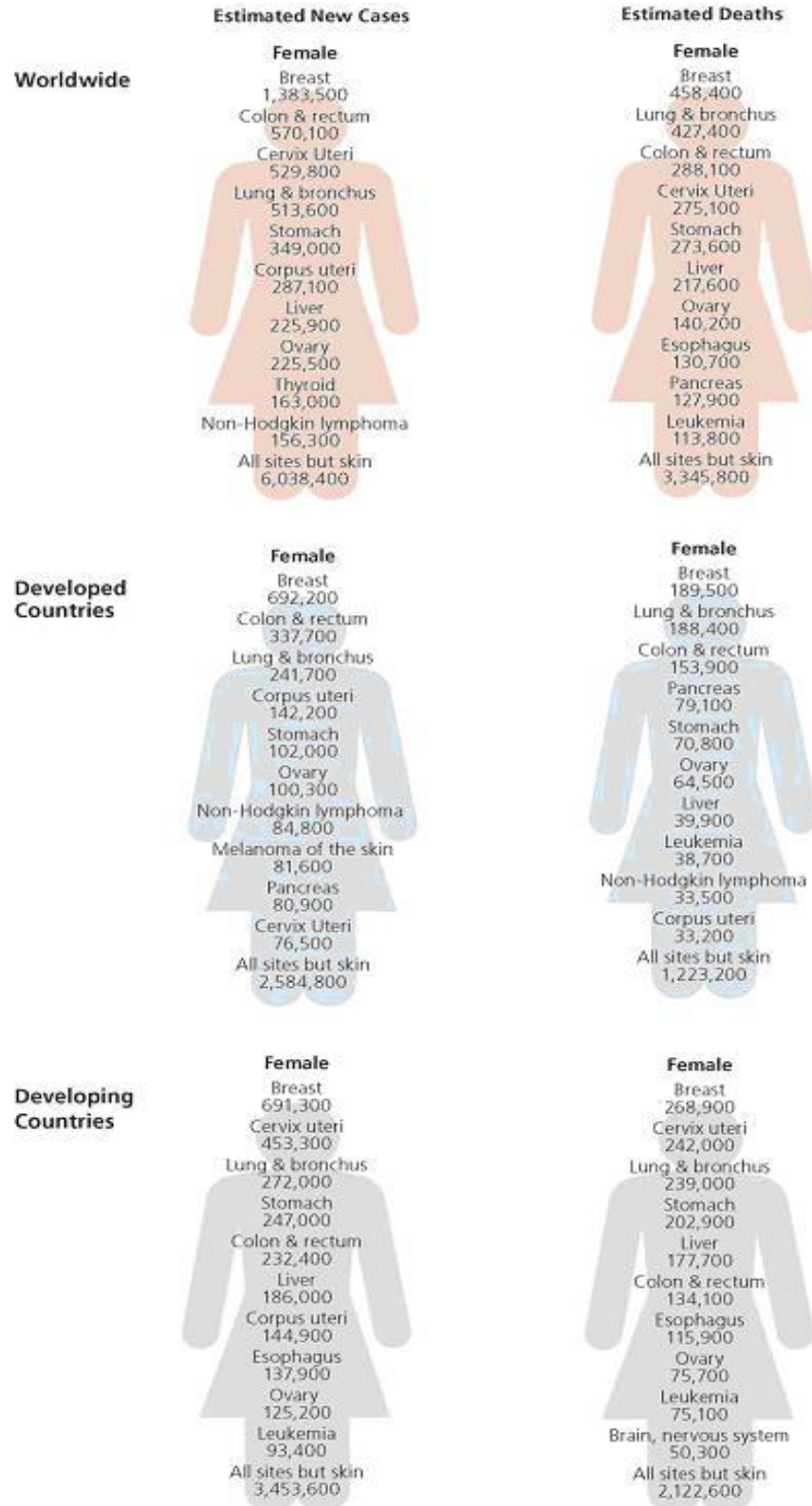
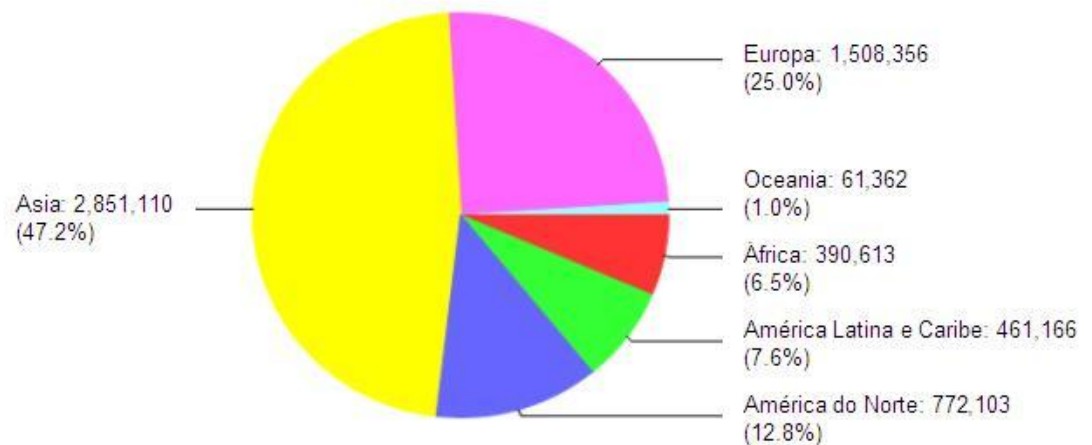


Figura 1: Estimativa mundial de novos casos de câncer e mortalidade em mulheres por tipos de câncer e nível de desenvolvimento econômico, 2008.

Fonte: GLOBOCAN 2008. (Jemal *et al.*, 2011).



GLOBOCAN 2008 (IARC) - 22.5.2011

Figura 2: Incidência dos casos de câncer no mundo, considerando apenas as mulheres, de todas as idades (estimativas para 2008). Fonte: GLOBOCAN 2008, IARC.

Com relação ao Brasil, as estimativas de 2010, válidas também para 2011, apontam para 489.270 novos casos de câncer entre homens e mulheres, onde os cânceres de mama e do colo do útero serão os mais incidentes entre as mulheres, fazendo jus a perspectiva para a América Latina. Estima-se que serão 49 mil novos casos de câncer de mama e 18 mil de cólo de útero (figura 3; INCa, 2010).

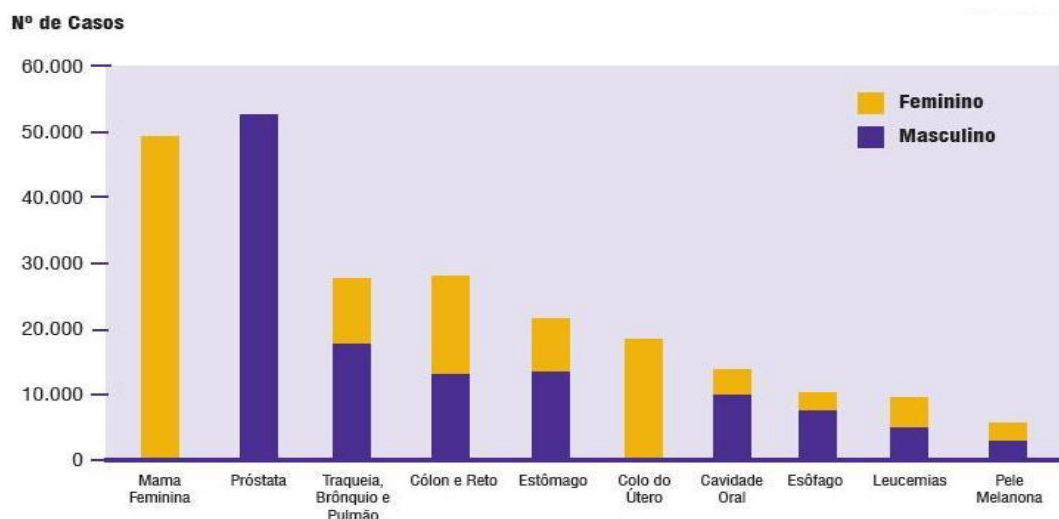


Figura 3: Tipos de câncer mais incidentes na população brasileira em 2010 (exceto pele não melanoma). Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCa)

As regiões sul e sudeste emergem com as maiores taxas de incidência de câncer, enquanto que a região centro-oeste e parte da região norte e nordeste apresentam taxas intermediárias. As menores taxas se encontram em uma parcela da região norte e em outra pequena parte da região nordeste (Figura 4).

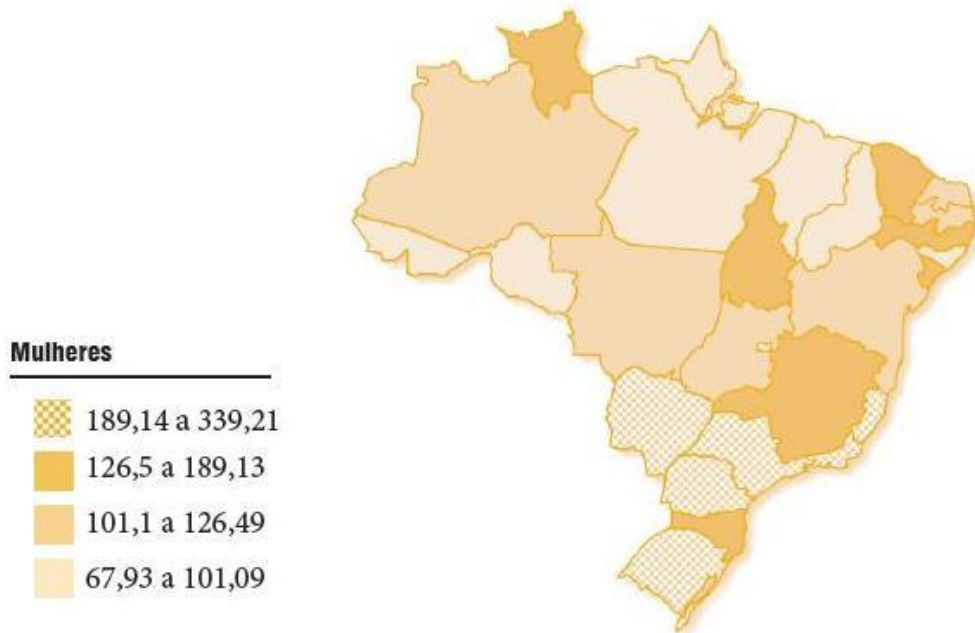


Figura 4: Mapa das taxas brutas de incidência de câncer por 100 mil mulheres, no ano de 2010, segundo a Unidade da Federação (todas as neoplasias, exceto pele não melanoma). Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCa).

Na região sul, considerando os novos casos de câncer entre as mulheres, estima-se que o câncer de mama será o mais incidente, com expectativa de 4.750 novos casos no estado do Rio Grande do Sul, sendo esperados 1.040 casos para a capital do estado (Porto Alegre). A expectativa de taxa bruta para todas as neoplasias, incluindo pele não melanoma é de 419,19 para o RS e 564,13 para Porto Alegre (Tabela 2; INCa, 2010).

Os judeus Ashkenazi compreendem a maior parte da população de Israel, sendo assim, as taxas de câncer em Israel fornecem as estimativas mais adequadas para esse grupo, embora não se possam tirar conclusões precisas a respeito. Ressaltam-se os dados da avaliação de 46 países desenvolvidos e em desenvolvimento, onde se observou que, os tipos de câncer em que Israel ficou

entre as 10 maiores taxas (entre as mulheres) foram leucemia, mama e coloretal (Ore *et al.*, 1991; Landis *et al.*, 1998).

Tabela 2: Taxas brutas de incidência de novos casos de câncer por 100.000 mulheres, segundo localização primária*, para o ano de 2010.

Localização primária Neoplasia Maligna	Estimativa de casos novos			
	Estado (RS)		Capital (Porto Alegre)	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Mama (feminina)	4.750	81,57	1.040	127,71
Cólo do Útero	1.250	21,53	210	25,55
Cólon e Reto	1.610	27,69	360	44,45
Traquéia, Brônquio e Pulmão	1.250	21,43	240	29,74
Estômago	560	9,57	90	11,25
Leucemias	350	6,01	60	7,21
Cavidade Oral	250	4,38	60	7,41
Pele Melanoma	450	7,68	70	9,02
Esôfago	420	7,18	40	5,58
Outras localizações	8.860	152,17	1.920	236,28
Subtotal	19.750	339,21	4.090	503,32
Pele não Melanoma	4.660	80,12	490	60,23
Todas as Neoplasias	24.410	419,19	4.580	564,13

Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCa)/ Ministério da Saúde.

* números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

3. Gene supressor tumoral *TP53*

O gene *TP53*, descrito pela primeira vez em 1979, foi o primeiro gene supressor tumoral a ser identificado (Lane & Crawford, 1979; Linzer & Levine, 1979). Foi originalmente identificado como um oncogene – acelerador de ciclo celular, mas nos dez anos seguintes de estudos após a sua descoberta confirmou-se que se tratava de um supressor de tumor, que é altamente mutado em uma grande variedade de tumores (Baker *et al.*, 1990; Finlay *et al.*, 1989). “Guardião do genoma” (Lane, 1992), “Estrela da Morte” (Vousden, 2000), “policia bom e mau” (Sharpless & DePinho, 2002), “Acrobata na tumoregênese” (Moll & Schramm, 1998), são apenas alguns dos nomes que têm sido atribuídos ao gene *TP53* ao longo dos anos. No entanto, na época em que foi descoberto (1979), não havia tanta publicidade a seu respeito, somente anos mais tarde, por volta de 1989 que *TP53* começou a se popularizar, quando as primeiras alterações nesse gene foram

descobertas em cânceres humanos, sendo a ele atribuído o título de “Molécula do ano”, pela revista *Science*, em 1993 (Harris, 1993).

A proteína supressora tumoral p53 atua como um nó principal em uma rota complexa de sinalização, que evoluiu a partir de estresses celulares, como danos no DNA, ativação de oncogenes, depleção nucleotídica e hipóxia. Na ausência de estresse celular, a proteína p53 é expressa em baixos níveis e exerce pouco ou nenhum efeito sobre o destino da célula. No entanto, em resposta a vários tipos de estresse, a p53 é ativada e isso se reflete em níveis elevados de proteína, bem como o aumento de funções bioquímicas. Como consequência da ativação da p53, as células podem sofrer alterações acentuadas no fenótipo, variando entre parada do ciclo celular, senescência ou apoptose (Bourdon *et al.*, 2003;. Dumont *et al.*, 2003;. El-Deiry, 2003; Oren, 2003). (Figura 5).

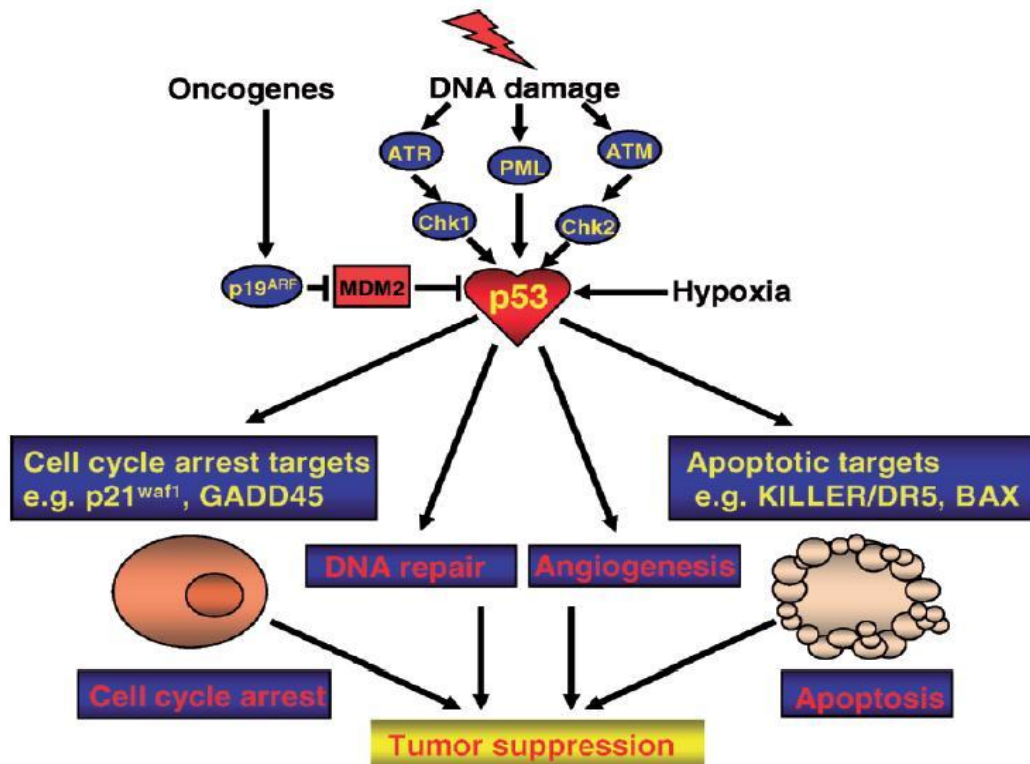


Figura 5. Rota de p53 e supressão tumoral mediada por p53. p53 é mediador das respostas a vários sinais de estresse, como dano no DNA, ativação de oncogenes ou hipóxia. Em geral, esses sinais induzem p53 estabilizando a proteína p53, levando a um aumento nos níveis de p53 na célula. Várias respostas à ativação de p53 foram descritas e a escolha das respostas depende de fatores como tipo celular, ambiente celular ou alterações oncogênicas. O efeito da ativação de p53 é inibir o crescimento celular parando o ciclo celular (senescência) ou por indução de

apoptose, assim, suprimento a formação do tumor. Hainaut, P. & Wiman, K.G. (eds.), 25 Years of p53 Research, 141-163, 2007 Springer.

A ativação do gene *TP53* é induzida em resposta as vias de sinalização de quinase que reconhecem danos no DNA e funcionam para regular a expressão de genes envolvidos na parada do ciclo celular, apoptose, reparo do DNA e angiogênese para evitar o acúmulo de erros genéticos (Hollstein *et al.*, 1991; Levine, 1997; Soussi *et al.*, 2000). O gene supressor tumoral humano TP53, localizado no cromossomo 17p13, codifica um fator de transcrição que regula a expressão de genes relacionados ao controle do ciclo celular, apoptose (Raycroft & Lozano, 1990) e efeitos antiproliferativos (Marx *et al.*, 1993). A proteína humana p53 é mutada e acumulada em mais de 50% dos cânceres (Nigro *et al.*, 1989). Mutações no gene *TP53* podem danificar as suas funções de ligação ao DNA ou de transativação, assim, inibindo sua função fundamental no controle do ciclo celular. Na maioria desses casos em que a mutação é recessiva, as células tumorais frequentemente retêm apenas o alelo mutado e perdem o tipo selvagem (Vogelstein & Kinzler, 1993; Harris, 1993), enquanto as células do sangue normais portam ambos os alelos. Este fenômeno é chamado perda de heterozigosidade (LOH). LOH no locus de TP53 pode ser avaliada comparando o status de *TP53* em tecidos tumorais e células sangüíneas.

Danos no DNA se referem a alterações nas ligações químicas dos nucleotídeos constituintes, resultando em pareamentos aberrantes ou incompatíveis, quebra de uma ou duas ligações fosfodiéster na cadeia de DNA, entre outros. Danos no DNA podem ser induzidos por agentes químicos genotóxicos, radiação ultravioleta, encurtamento de telômeros, ou espécies reativas ao oxigênio geradas por processos que incluem respiração mitocondrial, radiações ionizantes, ou por isquemia e reperfusão (Giaccia & Kastan, 1998). Danos ao DNA também podem ser induzidos por alterações oncogênicas nas células cancerosas, tais como superexpressão / amplificação de c-myc, que tem sido relatado por gerar excesso de espécies reativas ao oxigênio e danos ao DNA (Vafa *et al.*, 2002).

Em resposta a sinais de proliferação anormal e muitas formas de estresse celular, incluindo danos ao DNA e depleção de ribonucleotídeos, p53 induz as células a sofrerem uma parada transitória no G1, onde acredita-se que haja tempo para o reparo de DNA danificado antes do início da fase S. Uma falha na parada

em G1 pode levar a aberrações cromossômicas e instabilidade genômica. p53 ativada também pode eliminar células da população proliferativa através de mecanismos que envolvem uma prolongada detenção na fase G1, como pode ser visto durante a iniciação da senescência replicativa dos telômeros e estresse / danos no DNA induzindo a senescência prematura e apoptose (Levine, 1997; Oren, 2003; Vogelstein *et al.*, 2000). A eliminação das células danificadas, estressadas ou proliferadas anormalmente por p53 é considerado o principal meio pelo qual p53 medeia a supressão de tumor (Symonds *et al.*, 1994; Schmitt *et al.*, 2002).

O gene supressor tumoral *TP53* codifica uma proteína que tem propriedades inibidoras em relação a células tumorais, sendo assim, o desenvolvimento de câncer envolve a inativação da função desse supressor por vários mecanismos, como deleções ou mutações, por exemplo (Greenblatt *et al.*, 1994; Harris, 1996; Soussi, 1996). O papel do gene *TP53* em uma variedade de processos celulares, incluindo a transcrição, o reparo do DNA, controle do ciclo celular e apoptose, faz dele um marcador potencial para a detecção de pacientes com maior risco de desenvolver câncer (Vogelstein & Kinzler, 1992). A maioria das mutações relatadas no gene *TP53* estão na região codificante do domínio de ligação ao DNA (Roy *et al.*, 1994), prejudicando as funções de ligação a DNA ou transativação da proteína, assim inibindo o seu importante papel no controle do ciclo celular (Hainaut *et al.*, 1997). Há evidências de que novos mecanismos de regulação gênica, incluindo mutações nos sítios de splicing, doador e receptor ou *enhancer*, íntron e elementos promotores, podem ser importantes na regulação da expressão gênica (Lozano & Levine, 1991).

Além da capacidade de inibir a proliferação, p53 tem mostrado realizar uma série de outras funções. Algumas delas podem ter efeitos além da supressão tumoral, e perda de p53 pode ter grandes efeitos sobre outros aspectos de saúde e de doença (Vousden & Lane, 2007). A ativação de p53 induzida por estresse pode ter um papel importante em outras patologias. Ao contrário de supressão tumoral, a ativação de p53 em resposta ao estresse pode ser gravemente prejudicial, por exemplo, doenças por radiação e os efeitos debilitantes secundários da quimioterapia pode ser devido a apoptose induzida por p53 em sistemas hematopoiéticos, folículos pilosos capilares ou no intestino (Berns, 2006). p53 também pode desempenhar um papel nos efeitos nocivos da isquemia, ou danos neuronais associados à doença de Parkinson ou à doença de Alzheimer

(Culmsee & Landshamer, 2006; Jacobs *et al.*, 2006). Há muito a ser aprendido sobre o papel de p53 induzido pelo estresse em outras doenças. No entanto, há também evidências de que níveis basais de p53 desempenham um papel importante na manutenção da saúde normal, e que a perda de p53 não afeta apenas a resposta ao estresse.

Os padrões de mutações no gene *TP53* podem refletir os efeitos da exposição crônica cancerígena em populações de diferentes origens geográficas e étnicas (Greenblatt *et al.*, 1994; Hussain & Harris, 1998). Mutações no gene *TP53* têm sido associados com o processo de tumorigênese, na maioria dos cânceres humanos (Hainut & Hollstein, 2000). Das mutações do gene *TP53*, 80-90% envolvem os éxons 5-8 que abrange a região conservada da proteína (domínios II a V). Contudo, a natureza, tipo e localização destas mutações variam entre os diferentes tipos de tumor e dependem de diferentes tipos de exposição cancerígena (Cho *et al.*, 1994). A população brasileira é muito heterogênea, como consequência dos colonizadores europeus, escravos africanos e ameríndios (Carvalho-Silva *et al.*, 2001; Alves-Silva *et al.*, 2000). Os colonizadores portugueses se estabeleceram no país desde o início do século 16. Entre os séculos 16 e 19 cerca de 2,5 a 4,0 milhões de negros africanos foram trazidos como escravos (Curtin, 1969) e entre 1819-1947, o Brasil recebeu cerca de 5 milhões de imigrantes que se estabeleceram principalmente nas regiões Sul e Sudeste (Zago & Costa, 1985). Portanto, a população do sudeste é formada principalmente por descendentes de imigrantes europeus (portugueses, espanhóis, italianos e alemães). Estudos recentes da distribuição alélica indicaram que o grau de miscigenação da população branca do Sul e Sudeste é baixo (Zago *et al.*, 1996). Por outro lado, a miscigenação entre brancos e negros nos estados do Nordeste é maior (Azevedo *et al.*, 1981).

3.1. O polimorfismo R72P do gene *TP53* e sua importância nos processos moleculares

O gene *TP53* é um dos genes humanos mais intensamente estudados devido ao seu papel como supressor de tumor (Levine *et al.*, 1997). Mutações em *TP53* são encontradas em mais de 50% de todos os cânceres humanos (Hollstein *et al.*, 1994), compreendendo mais de 50 tipos de células e tecidos diferentes, indicando que há uma seleção forte para a perda de atividade de p53 durante o

desenvolvimento tumoral. No entanto, as variantes exibem diferenças em suas respectivas habilidades para ativar a expressão gênica, e isso é refletido pelos seus diferentes graus de interação com os componentes básicos da maquinaria transcricional.

Descoberto em 1986, o polimorfismo intragênico R72P leva à expressão de duas proteínas p53 diferentes, com arginina ou prolina no códon 72 em uma região rica em resíduos de prolina (Harris *et al.*, 1986). Este polimorfismo envolve uma mudança de base única que substitui arginina (CGC) por resíduos de prolina (CCC) dentro do domínio de transativação de P53. Esta região pode estar envolvida na atividade apoptótica de p53 (Walker & Levine, 1996). A distribuição deste polimorfismo na população em geral é heterogênea, com uma frequência variável dos seus genótipos.

Estudos recentes sugerem que os alelos polimórficos do códon 72 do gene *TP53* podem desempenhar um papel significativo no aumento da susceptibilidade a diferentes formas de câncer humano (Buyru *et al.*, 2003; Pim *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 1995). Vários estudos têm encontrado uma associação entre o polimorfismo do éxon 4 e risco aumentado para o desenvolvimento de tumor (Pim *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 1995; Lehman *et al.*, 2000). O envolvimento deste polimorfismo na carcinogênese é bem estudado, mas é um assunto que ainda gera controvérsias. Recentemente, uma associação entre o polimorfismo no códon 72 e suscetibilidade ao câncer humano foi relatado no câncer de bexiga (Oka *et al.*, 1991; Soultzis, *et al.*, 2002) e de pulmão (Fan *et al.*, 2000; Pierce *et al.*, 2000). No entanto, este polimorfismo parece não afetar o risco ao câncer cervical em pacientes do norte da Itália (Tenti *et al.*, 2000). O polimorfismo no códon 72 também pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de vírus humano associado ao câncer, como o papilomavírus humano (HPV), associado ao câncer de pele (O'Connor *et al.*, 2001), associado também ao câncer cervical (Madeleine *et al.*, 2000; Peixoto Guimaraes *et al.*, 2001) e ao câncer de esôfago (Klug *et al.*, 2001). O polimorfismo no códon 72 causa uma diferença funcional entre as duas versões de p53. Na verdade, o genótipo Arg / Arg de *TP53* induz apoptose e suprime transformação mais eficientemente do que o genótipo Pro / Pro (Thomas *et al.*, 1999). No entanto, a presença de um resíduo de arginina aumenta significativamente a sensibilidade da proteína p53 a degradação pela oncoproteína E6 do HPV (Storey *et al.*, 1998).

Ueda *et al.* estudaram a relação entre o polimorfismo R72P e o risco de desenvolver câncer de endométrio e encontraram um risco aumentado da doença em pacientes portadores do genótipo Arg / Arg comparados àqueles com genótipo Arg / Pro e Pro / Pro (Ueda *et al.*, 2006). Por outro lado, um estudo realizado por Roh *et al.* encontraram um risco aumentado de câncer de endométrio em pacientes portadores do alelo Pro (Roh *et al.*, 2004). Os dois alelos são bastante comuns em uma variedade de populações (Birgander *et al.*, 1996; Sjalander *et al.*, 1996b; Sjalander *et al.*, 1996a). Dados funcionais sugerem que as duas variantes não são bioquimicamente equivalentes (Thomas *et al.*, 1999), porque elas diferem na capacidade de se ligar ao componente da maquinaria de transcrição TAF30, de interagir fisicamente com p73, de ser orientada para o proteassomo e de modular a suscetibilidade a apoptose em uma variedade de sistemas experimentais (Marin *et al.*, 2000; Thomas *et al.*, 1999; Storey *et al.*, 1995; Wu *et al.*, 2002; Bonafé *et al.*, 2002; Dumont *et al.*, 2003). Estudos recentes descobriram que o alelo arginina do códon 72 de p53 é preferencialmente retido no tecido neoplásico de pacientes heterozigotos arginina / prolina afetados por carcinomas comuns, tais como de vulva, esôfago, trato urinário e câncer de pulmão (Brooks *et al.*, 2000; Kawaguchi *et al.*, 2000; Furihata *et al.*, 2002; Rosenthal *et al.*, 2001; Papadakis *et al.*, 2002). Além disso, em pelo menos um caso de câncer de cabeça e pescoço, a presença de um alelo arginina mutado foi relacionado com uma sensibilidade reduzida à terapia do câncer (Bergamaschi *et al.*, 2003). Tanto quanto o câncer de mama tem sido proposto que o polimorfismo R72P pode afetar a função das mutações do gene TP53, e confere uma vantagem de crescimento de tumores nos quais a mutação reside no alelo arginina (Langerod *et al.*, 2002). Como uma base funcional para este fenômeno, tem sido proposto que a arginina mutante, não o alelo prolina, é capaz de inativar a apoptose p73-dependente (Bergamaschi *et al.*, 2003).

Evidências apontam que a variante p53Arg induz apoptose com cinética mais rápida e suprime transformação de forma mais eficiente do que a variante p53Pro. Estes resultados podem sugerir que os genótipos de p53 podem afetar o design de futuros tratamentos e estratégias de gestão para os pacientes com tipo selvagem de p53, contido em tumores (Thomas *et al.*, 1999).

Embora bioquimicamente diferentes, o significado do polimorfismo de p53 no códon 72 permanece controverso em termos de epidemiologia do câncer. Associação significativa entre o polimorfismo R72P e risco de câncer têm sido

relatadas, embora os resultados em relação à maioria dos cânceres, como o de mama, entre outros, permanecem inconclusivos (Själänder *et al.*, 1996; Weston *et al.*, 1997; Papadakis *et al.*, 2000). No entanto, é possível que as diferenças entre os vários estudos podem refletir as populações que foram analisadas, pois há diferenças inerentes a prevalência relativa dos alelos polimórficos em várias populações (Beckman *et al.*, 1994) (Tabela 3). Uma forte correlação é evidente entre o polimorfismo de p53 no códon 72 e etnia, com a frequência do alelo arginina (arg) sendo mais predominante nas populações que estão mais distantes do equador (Beckman *et al.*, 1994).

Tabela 3: Frequência do polimorfismo R72P em estudos de caso-controle em câncer de mama em diferentes populações (Adaptado de Damin et al., 2006 e Hu et al., 2010).

N Amostral Caso / Controle	Distribuição genotípica						Referência
	Casos			Controles			
	RR	RP	PP	RR	RP	PP	
Ásia							
93/347	37	51	5	144	165	38	Kawajiri <i>et al.</i> , 1993
200/282	64	100	36	114	138	30	Huang <i>et al.</i> , 2003
77/41	20	51	06	09	24	08	Katiyar <i>et al.</i> , 2003
191/218	93	69	29	111	76	31	Noma <i>et al.</i> , 2004
94/265	36	38	20	107	120	38	Siddique <i>et al.</i> , 2005
404/472	149	178	77	150	222	100	Ma <i>et al.</i> , 2006
221/205	83	109	29	75	90	40	Khadang <i>et al.</i> , 2007
243/333	86	109	48	76	160	97	Gochhait <i>et al.</i> , 2007
104/105	46	45	13	29	64	12	Singh <i>et al.</i> , 2008
393/80	105	200	88	29	38	13	Lum <i>et al.</i> , 2008
250/500	66	125	59	135	224	141	Rajkumar <i>et al.</i> , 2008
Mediterrâneo							
56/59	34	10	12	12	41	06	Papadakis <i>et al.</i> , 2000
30/49	18	09	03	19	26	04	Mabrouk <i>et al.</i> , 2003
42/51	26	13	03	10	32	09	Kalemi <i>et al.</i> , 2005
108/60	74	32	02	30	24	06	Ohayon <i>et al.</i> , 2005 ^a
24/107	15	08	01	24	70	13	Ohayon <i>et al.</i> , 2005 ^b
115/63	64	39	12	26	28	09	Buyru <i>et al.</i> , 2007
23/162	08	15	0	24	134	04	Arbel-Alon <i>et al.</i> , 2002
Europa							
212/689	95	93	24	375	253	61	Sjalander <i>et al.</i> , 1996
552/543	282	221	49	300	203	40	Wang-Gohrke <i>et al.</i> , 2002
529/393	284	203	42	207	159	27	Suspitsin <i>et al.</i> , 2003
325/207	191	112	22	109	79	19	Menzel <i>et al.</i> , 2004 ^a
150/95	84	58	08	49	35	11	Menzel <i>et al.</i> , 2004 ^b
1.551/733	825	617	109	403	278	52	Tommiska <i>et al.</i> , 2005
580/365	294	235	51	198	141	26	Schmidt <i>et al.</i> , 2007 ^a
1.043/506	565	401	77	250	217	39	Schmidt <i>et al.</i> , 2007 ^b
1.247/263	668	477	102	141	109	13	Schmidt <i>et al.</i> , 2007 ^c
4.958/5.130	2.687	1.915	356	2.769	1.973	388	Schmidt <i>et al.</i> , 2007 ^d
517/585	285	200	32	303	237	45	Schmidt <i>et al.</i> , 2007 ^e
2.585/3.251	1.368	1.021	196	1.774	1.249	228	Garcia-Closas <i>et al.</i> , 2007
472/2.462	257	185	30	1.354	925	183	Johnson <i>et al.</i> , 2007
2.023/2.197	1.107	768	148	1.177	854	166	Baynes <i>et al.</i> , 2007
157/112	80	67	10	57	46	09	Cavallone <i>et al.</i> , 2008
248/642	137	86	25	380	212	50	Costa <i>et al.</i> , 2008
87/151	46	33	08	84	57	10	Klaes <i>et al.</i> , 1999
71/172	35	25	11	86	71	15	Rezza <i>et al.</i> , 2001
240/145	153	71	16	92	40	13	Santos <i>et al.</i> , 2005
América							
65/117	32	27	06	72	42	03	Weston <i>et al.</i> , 1997
1.477/2.224	804	569	104	1.255	838	131	Cox <i>et al.</i> , 2007
1.653/1.854	909	644	100	1.021	704	129	Sprague <i>et al.</i> , 2007
578/390	288	244	46	218	138	34	Gaudet <i>et al.</i> , 2008
111/164	62	42	07	91	62	11	Madeleine <i>et al.</i> , 2000
119/127	60	45	14	66	45	16	Klug <i>et al.</i> , 2001
118/202	64	48	06	70	111	21	Damin <i>et al.</i> , 2006

4. Gene MTHFR e sua contribuição nos estudos genéticos

O gene *MTHFR* localiza-se no braço curto do cromossomo 1, mais precisamente na posição 1p36.3, constitui-se de 11 éxons e codifica a enzima 5-metilenotetrahidrofolato redutase, sendo descrito pela primeira vez por Goyette *et al.* (1994).

Metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima mediada por folato no metabolismo um-carbono, que regula a metilação e síntese do DNA. Uma redução na atividade de MTHFR está associada com hipometilação do DNA genômico. Acredita-se que MTHFR pode ter um papel na etiologia do câncer, através de seus efeitos sobre a metilação do DNA e a síntese de nucleotídeos (Suzuki *et al.*, 2008).

O processo de metilação do DNA é um recurso epigenético que está associado com a inativação do cromossomo X, imprinting genômico, silenciamento transcricional dos genes e estabilidade genômica (McCabe *et al.*, 2005). Problemas na metilação do DNA estão associados a inúmeras patologias, incluindo o câncer. O folato possui uma variedade de formas, com funções para doar e receber uma unidade de carbono em um sistema metabólico conhecido como metabolismo um-carbono. 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima chave no metabolismo um-carbono, pois desvia essas unidades um-carbono para reações de metilação (5,10-metilenotetrahidrofolato → 5 metiltetrahidrofolato) em detrimento da síntese de nucleotídeos (Frosst *et al.*, 1995).

O maior risco de câncer associado com MTHFR mutante pode ser explicado pela diminuição da metilação do DNA, devido à redução na disponibilidade de 5 metiltetrahidrofolato, o que é plausível porque a metilação do DNA desempenha um papel crítico na regulação da expressão gênica e manutenção da estabilidade genômica e aberrações nos padrões de metilação têm sido associados com o desenvolvimento do câncer (Kundu *et al.*, 1999; Lengauer *et al.*, 1997; Cheng *et al.*, 1997).

O metabolismo um-carbono é uma rede de inter-reações biológicas que fornecem co-fatores essenciais para a produção de S-adenosilmetionina, o principal doador de metila para a metilação, bem como o grupo metil na metilação de dUMP para dTMP para a síntese de DNA (Choi *et al.*, 2000). Um suprimento baixo de metil induz a hipometilação global do DNA (Rampersaud *et al.*, 2000),

bem como a metilação deficiente de dUMP para dTMP levando a problemas na incorporação de uracilas (Kim *et al.*, 2001). A deficiência de folato resulta na interrupção da capacidade de reparação do DNA (Wei *et al.*, 2003), que pode levar a quebras no DNA, mutagênese reforçada e apoptose. Folato, assim como a metionina e colina, é a principal fonte de grupos metil dos alimentos (Institute of Medicine - IOM); depleção de folato é uma força perturbadora suficiente para diminuir o *pool* de metila (Miller *et al.*, 1994). Outras vitaminas do complexo B, como vitaminas B2, B6 e B12, também são co-fatores essenciais para o metabolismo um-carbono que envolve muitos genes, incluindo metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR). MTHFR está em um ponto crítico de ramificação do metabolismo um-carbono, que realiza a conversão irreversível de 5,10 metilenotetrahidrofolato para 5 metiltetrahidrofolato, que dirige o folato para remetilação de homocisteína em metionina, em detrimento da síntese de timidilato (Frosst *et al.*, 1995) (Figura 6).

Uma alta ingestão de ácido fólico, que é abundante em vegetais e frutas foi associado à redução do risco de diversos cânceres. Deficiência de folato tem sido associada com o aumento do risco ao câncer através do reparo da síntese de DNA danificado e rompimento de metilação de DNA que podem levar à ativação de proto-oncogene (Duthie, 1999).

Deficiências nos níveis de folato podem resultar em metilação de DNA anormal e expressão gênica descontrolada levando a transformações de cunho maligno (Choi *et al.*, 2000; Duthie, 1999). Estabeleceu-se que, severa deficiência de folato causa anemia megaloblástica em humanos e que a ingestão inadequada de folato durante a gravidez está relacionada com defeitos de tubo neural nos recém-nascidos (Czeizel *et al.*, 1993). Um *status* baixo de folato é considerado um fator de risco independente para doença cardíaca, mediada por níveis elevados de toxinas das células endoteliais e homocisteína (Boushey *et al.*, 1995). Deficiência de folato também foi relacionada ao desenvolvimento de câncer, mais notavelmente em câncer de colo do útero, pulmão, mama, cérebro e coloretal. Parecem haver dois mecanismos pelos quais a deficiência de ácido fólico poderá aumentar o risco ao câncer: alterando a metilação normal do DNA e induzindo a um desequilíbrio nos precursores do DNA, levando a modificações na síntese e reparo de DNA. Os resultados da relação entre níveis de folato e padrões de metilação em indivíduos já diagnosticados com câncer e, mais importante, em indivíduos saudáveis normais, fornecem elementos plausíveis para um mecanismo

pelo qual o ácido fólico pode modificar a metilação do DNA e alterar o risco ao câncer. No entanto, há evidências de que a hipermetilação do DNA também pode ocorrer durante o desenvolvimento de tumor (Jones *et al.*, 1999). Enquanto um risco aumentado de câncer pode ser explicado pela hipermetilação e, posteriormente, o silenciamento de genes supressores tumorais (Esteller *et al.*, 1999), como a deficiência de folato pode influenciar ainda não está claro. Os mecanismos de reparo de DNA oferecem uma das primeiras linhas de defesa contra danos ao DNA, mutagênese e carcinogênese (Branda *et al.*, 1993).

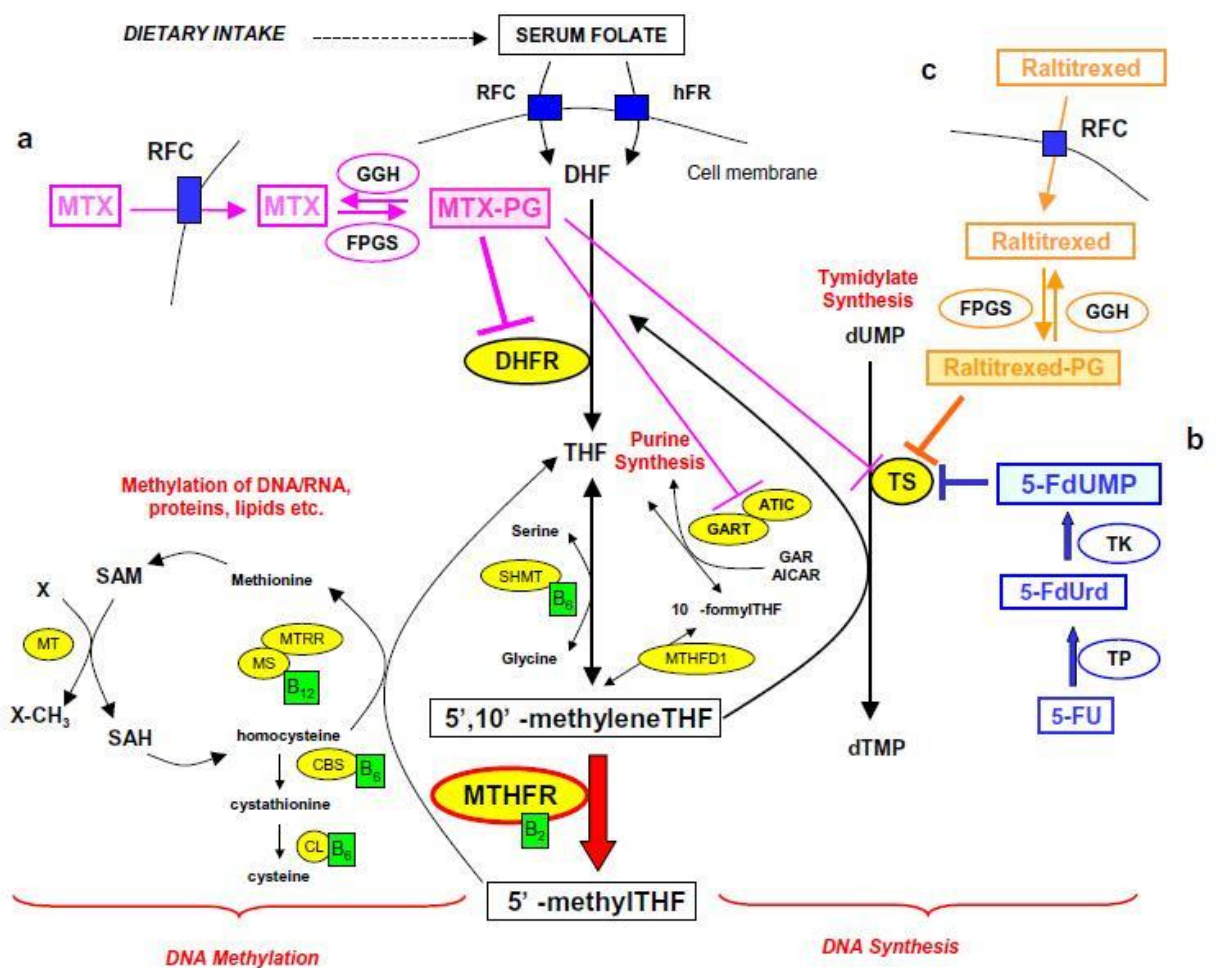


Figura 6 – Uma visão simplificada da via do metabolismo do folato e dos alvos da principal fluoropirimidina e agentes antifolato. Transportadores: hFR (human folate receptor), receptor humano de folato; RFC (reduced folate carrier), transportador de folato reduzido. Enzimas (denotadas como ovais): ATIC (5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotídeo formiltransferase/IMP ciclohidrolase); CBS (cistationina-b-sintase); CL (cistationina liase); DHFR (dihidrofolato redutase); FPGS (folilpoliglutamil sintase); GART (glicinamida ribonucleotídeo formiltransferase); GGH (c-glutamil hidrolase); MS (metionina sintase); MT (metiltransferase); MTHFR (5,10-metileno-tetra-hidrofolato redutase); MTHFD1 (metilenotetra-hidrofolato dehidrogenase 1); MTRR (metionina sintase redutase); TK (timidina

quinase); TP (timidina fosforilase); TS (timidilato sintase). Metabólitos: AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamida ribonucleotideo); CH₃ (grupo metil); DHF (dihidrofolato); dTMP (deoxitimidina 50-monofosfato); dUMP (deoxiuridina 50-monofosfato); GAR (glicinamida ribonucleotideo); SAH (S-adenosilhomocisteína); SAM (S-adenosilmetionina); THF (tetrahidrofolato); X (vários substratos para metilação). Vitaminas B₂, B₆ e B₁₂ são cofatores na rota. Droga: 5-FdUMP (5-fluoro-2deoxiuridina-50-monofosfato); 5-FdUrd (5-fluoro-2-deoxiuridina); 5-FU (5-fluorouracil); MTX (methotrexate); Drug-PG (droga poliglutamada). (Adaptado de De Mattia *et al.*, 2009)

Metileno-tetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima que está envolvida na regulação intracelular dos níveis de folato. Essa enzima converte 5, 10-metileno-tetrahidrofolato (MeTHF) em 5-metiltetrahidrofolato, que fornece um grupo metil para converter homocisteína em metionina. Essa etapa é importante para a síntese de DNA e regulação gênica por meio do processo de metilação. A eficiência da enzima pode depender de vários fatores, incluindo alimentação e alterações genéticas (Kim *et al.*, 2005; Brockton *et al.*, 2006).

Aumentos na metilação de certas seqüências de DNA e diminuição em outras são muito freqüentes em cânceres humanos, contudo, a relação entre câncer e hipermetilação em partes do genoma e hipometilação em outras partes ainda não está clara. Em cânceres humanos, hipermetilação é muitas vezes observada na região 5' de alguns genes ou na região promotora que são amplamente não metiladas em tecidos somáticos normais (Jones & Baylin, 2002). Para muitos desses genes, esta hipermetilação tem sido associada ao silenciamento transcricional. Além desse aumento na metilação do DNA, uma diminuição global no teor de 5-metilcitosina do genoma ligado a vários tecidos somáticos normais pós-natal (hipometilação global de DNA) foi descrito em diferentes tipos de cânceres, indicando diferenças câncer-específicas e não tecido-específicas (Gama-Sosa *et al.*, 1983; Ehrlich, 2002). Algumas relações câncer-hipometilação global de DNA podem ser atribuídas a uma diminuição na metilação do DNA satélite, como foi demonstrado para câncer de mama, tumor de Wilms e carcinoma epitelial de ovário (Narayan *et al.*, 1998; Jackson *et al.*, 2004; Qu *et al.*, 1999a). Hipometilação em seqüência de cópia única em tumores também é observado. Em muitos estudos, em que ambas hipometilação e hipermetilação local (geralmente ilhas CpG na região 5' dos genes ou regiões promotoras) foram investigadas, estas mudanças epigenéticas opostas foram observadas nos mesmos tumores (Feinberg & Vogelstein, 1983; Feinberg *et al.*, 2002; Grunau *et al.*, 2005; Okada *et al.*, 2005;

Ehrlich *et al.*, 2002; Narayan *et al.*, 1998; Santourlidis *et al.*, 1999). Contudo, não está claro como esses dois eventos epigenéticos compartilham uma base mecanista ou etiológica. Pode haver uma interferência entre desmetilação e vias de metilação *de novo* durante a tumorigênese, onde um pode depender do outro (Qu & Ehrlich, 1999).

Folatos desempenham um papel importante na carcinogênese por serem os principais portadores dos grupos um-carbono necessários para reações de metilação intracelular e síntese de nucleotídeos (Kim *et al.*, 2003; Giovannucci *et al.*, 2002). O metabolismo um-carbono associado à folato (*Folate-associated one-carbon metabolism* - FOCM) depende de co-fatores de vitamina B para muitas das reações em que está envolvido. Metilenotetrahidrofolato redutase requer vitamina B2 (riboflavina), as reações catalisadas por metionina sintetase redutase (MTRR) e metionina sintase (MTR) requerem vitamina B12 (cianocobalamina) e cistationina- β -sintase (CBS), requer a vitamina B6 (piridoxina). Investigou-se se o polimorfismo C677T de MTHFR modificou a relação entre os níveis plasmáticos de vitamina B2 e o risco de desenvolver adenoma. O alelo 677T codifica para valina na posição 222 no domínio de ligação FAD da enzima e a enzima variante tem uma afinidade relativamente baixa em relação ao cofator FAD, sugerindo que altos níveis de cofator FAD podem estabilizar a enzima variante, como o folato faz (Jacques *et al.*, 2002; McNulty *et al.*, 2006).

Controlar os padrões epigenéticos de metilação do DNA é fundamental na regulação da expressão gênica (Jones & Gonzalgo, 1997; Jones & Takai, 2001; Bird & Wolffe, 1999; Jones & Laird, 1999; Lorincz & Groudine, 2001). Metilação na posição 5' de citosina é um dos principais mecanismos epigenéticos de controle da expressão gênica e silenciamento de DNA (Levine *et al.*, 1991; Jones *et al.*, 1998; Nan *et al.*, 1998) e é considerada crucial na manutenção da integridade estrutural do genoma (Wolffe & Matzke, 1999). Apesar de essencial para o desenvolvimento normal, a metilação do DNA pode tornar-se mal direcionada e levar à carcinogênese (Baylin *et al.*, 1998; Cameron *et al.*, 1999; Santini *et al.*, 2001) ou outras condições anormais. Por conseguinte, é de considerável interesse identificar os fatores endógenos e exógenos que determinam os padrões de metilação (Robertson & Wolffe, 2000; Wolffe & Matzke, 1999).

4.1. Atuação dos polimorfismos C677T e A1298C de MTHFR na suscetibilidade ao câncer

Variações na seqüência do DNA ocorrem naturalmente e podem assumir várias formas, como por exemplo, substituição, inserção ou deleção de um ou vários nucleotídeos. Dependendo da freqüência em que ocorram essas alterações e sua capacidade de causar doença, essas variações são chamadas de polimorfismos (freqüência maior que 1% na população normal) ou mutações (freqüência menor que 1% e muitas vezes resultando em doença) (Balasubramanian *et al.*, 2004). Um polimorfismo funcional no gene da *MTHFR* é o C677T, que envolve a transição de citosina para timina no nucleotídeo 677, resultando em uma substituição de alanina por valina na enzima (Kono *et al.*, 2005). Isso resulta em uma redução da atividade enzimática (Frosst *et al.*, 1995) em 35% para o genótipo CT (citosina / timina) e essa porcentagem de redução é maior ainda para o homocigoto mais raro TT (timina / timina), alta quantidade de homocisteína no plasma total (Guinotte *et al.*, 2003) e um risco alterado para doenças crônicas e anomalias congênitas (Frosst *et al.*, 1995; Rozen, 2004). Uma possível conseqüência do aumento no substrato (MeTHF) pode ser uma maior sensibilidade a agentes citotóxicos e também o risco de reações tóxicas, por comprometimento da síntese de DNA e reparo (Sohn *et al.*, 2004). Outra conseqüência seria uma redução na disponibilidade de grupos metil, resultando em uma regulação aberrante do gene (Frosst *et al.*, 1995).

Uma alta ingestão de folato, que está presente em vegetais e frutas está sendo associado com a redução do risco de desenvolver diversos tipos de câncer, porém, deve-se considerar que polimorfismos ou interações gene-ambiente, e não apenas o consumo de folato, teriam um impacto no risco ao câncer, desde que polimorfismos funcionais em genes relacionados com o folato contribuam para a alteração do seu metabolismo, sendo assim os polimorfismos de *MTHFR* têm sido intensamente estudados em câncer de mama, mas os resultados são inconsistentes (Lewis *et al.*, 2006; Lissowska *et al.*, 2007). Em mulheres na pós-menopausa, um aumento significativo no risco ao câncer de mama foi encontrado entre os indivíduos com o genótipo *MTHFR* 677TT quando comparados com aqueles com o genótipo *MTHFR* 677CC (Suzuki *et al.*, 2008).

A substituição de citosina por timina no códon 222 do gene *MTHFR* que converte alanina (GCC) em valina (GTC) está associada com atividade enzimática reduzida e aumenta os níveis plasmáticos de homocisteína (Suzuki *et al.*, 2008;

Jakubowska *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2006; Macis *et al.*, 2007). Vários grupos têm avaliado a associação entre o polimorfismo C677T e risco ao câncer de mama, embora os resultados sejam contraditórios. Alguns autores observaram um aumento no risco para os portadores do genótipo TT. Recente meta-análise de Macis *et al.* mostrou uma associação do genótipo TT com o aumento do risco ao câncer de mama nas mulheres pré-menopausa (Macis *et al.*, 2007). Em outro estudo, a frequência do alelo valina, que representa baixa de *MTHFR*, foi significativamente mais freqüente em mulheres judias diagnosticados com câncer de mama bilateral ou câncer de mama e de ovário combinados (Gershoni-Baruch *et al.*, 2000).

O polimorfismo de base única do gene da *MTHFR* (677C > T) está correlacionado com termolabilidade da enzima (Frosst *et al.*, 1995). Indivíduos com o genótipo 677TT tendem a acumular 5,10-metilenotetrahidrofolato intracelularmente à custa de 5-metiltetrahidrofolato, enquanto que os indivíduos com os genótipos 677CC ou 677CT tem predominantemente 5-metiltetrahidrofolato intracelular (Bagley *et al.*, 1998). Além disso, o genótipo 677TT foi correlacionado com níveis ótimos de folato em termos de folato diminuído e homocisteína aumentada no soro ou plasma (Ma *et al.*, 1996).

Um segundo polimorfismo comum no domínio C-terminal de regulação do gene *MTHFR* 1298A > C (Gln > Ala), também foi identificado, e sua função ainda é debatida. A substituição de uma adenina por uma citosina no éxon 7, na posição do nucleotídeo 1298, códon 429, resulta em um códon de glutamato na posição de alanina (van der Put *et al.*, 1998).

Apesar de evidências epidemiológicas e plausibilidade biológica forte, poucos estudos examinaram se polimorfismos funcionais dos genes do metabolismo um-carbono modificam o risco ao câncer de mama associado à ingestão de ácido fólico e outros nutrientes metil-relacionados. Um importante relato sobre interações gene-folato vem do Shanghai *Breast Cancer Study* realizado na China, no qual o polimorfismo de *MTHFR* 677C > T não foi um preditor independente de risco de câncer de mama, enquanto que indivíduos com o genótipo 677TT tiveram um risco elevado de câncer de mama quando o consumo de ácido fólico na dieta foi baixo (Shrubsole *et al.*, 2004).

Dados de outros estudos sugerem, contudo, que um polimorfismo genético em *MTHFR* 1298A > C (mas não 677C> T) interage com a dieta podendo aumentar o risco de tumores do cólon. A variante 1298A > C ocorre na região

regulatória de MTHFR, onde Sam se liga como um inibidor alostérico. Isto fornece base para a observação de associações fortes entre *MTHFR* 1298A> C e CIMP ao invés de 677C> T, que, ao contrário, afeta a estabilidade da enzima. No entanto, a variante 677 TT tem sido associada a metilação do DNA genômico reduzida, enquanto a variante 1298CC não tem. Tanto 677C> T quanto 1298A> C estão em alto desequilíbrio de ligação e, portanto, não devem ser considerados isoladamente, porém, os modelos de polimorfismos de base única tinham maior poder para detectar associações, e os resultados foram consistentes com as análises dos polimorfismos combinados. Descobertas recentes, apoiam que o polimorfismo 1298A > C seria um preditor de risco ao câncer de cólon (Curtin *et al.*, 2004; Keku *et al.*, 2002). Consistente com estudos anteriores, não foi encontrada nenhuma evidência para confirmar que o polimorfismo C677T esteja associado com CIMP em tumores. Não houve interação entre ambos polimorfismos de *MTHFR* e ingestão de ácido fólico em associação com tumores de cólon CIMP-definidos. No entanto, quando o efeito conjunto da ingestão de folato e de álcool foi considerado como parte de um padrão de consumo alimentar, observou-se uma interação entre a dieta de alto ou de baixo risco e o polimorfismo 1298A> C em relação ao estado CIMP (Paz *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2006).

Considerando-se a alta variabilidade regional e geográfica da prevalência dos polimorfismos de *MTHFR* (Tabela 4), uma causa particularmente importante de inconsistências entre os dados pode ser atribuída às diferenças raciais e étnicas entre os pacientes incluídos nos ensaios clínicos (De Mattia *et al.*, 2009). Vários estudos têm encontrado uma associação entre o genótipo 677TT e o risco de desenvolver doenças cardiovasculares (Leon *et al.*, 2000) ou câncer, como o de mama no período pós-menopausa (Suzuki *et al.*, 2008), o colorretal (Sanjoaquin *et al.*, 2005; Ryan-Harshman *et al.*, 2007; Fallon *et al.*, 2003), e câncer de pulmão (Shi *et al.*, 2005). Recentemente, a associação dos genótipos 677TT e 1298CC e o risco de desenvolver câncer gástrico foram re-avaliados em quatro meta-análises (Zintzaras *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2008; Larsson *et al.*, 2006; Boccia *et al.*, 2008), as quais corroboraram o efeito de magnitude diferencial em diferentes regiões geográficas significativa. O genótipo 677TT mostrou ser um forte fator de risco em chineses e em populações do Leste Asiático (Zintzaras *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2008), um fator de risco em algumas, mas não em todas as populações da Itália (Vollset *et al.*, 2007; Zintzaras *et al.*, 2006), populações do Sul da Europa (Larsson *et al.*, 2006; Graziano *et al.*, 2006; Lissowska *et al.*, 2004), e em estudos

populacionais da América do Sul (Larsson *et al.*, 2006; Boccia *et al.*, 2008). Foi considerado insignificante em outras populações, como na Coreia ou as norte-americanas (Zintzaras *et al.*, 2006; Larsson *et al.*, 2006). A associação entre o genótipo 1298CC e o câncer gástrico foi limitada à Ásia Oriental (Zintzaras *et al.*, 2006), e a um estudo no Sul da Europa (Vollset *et al.*, 2007), enquanto que resultou ser inconsistente em outras populações estudadas (Larsson *et al.*, 2006; Boccia *et al.*, 2008). Na verdade, embora os dois sítios polimórficos 677TT e 1298CC estejam em desequilíbrio de ligação (Ogino *et al.*, 2003; Ulvik *et al.*, 2007), os genótipos 677TT/1298CC estão ausentes em alguns estudos (Vollset *et al.*, 2007), sugerindo que os genótipos 677TT/1298CC podem resultar em um fenótipo severamente adverso. Além disso, o número limitado de casos estudados, as divergências geográficas, e as interações genético-ambiental desconhecidas também poderiam estar envolvidos. De qualquer forma, estudos sobre pacientes italianos atestam pelo menos um genótipo de *MTHFR* com uma atividade reduzida de folato redutase conhecido (677TT ou 1298CC) (de Bree *et al.*, 2003), associado a câncer gástrico. A partir dessa constatação, foram analisados os polimorfismos *MTHFR* em uma série de indivíduos com câncer gástrico com o objetivo de melhorar as técnicas de identificação de grupos de alto risco.

Entre os SNPs relacionados ao metabolismo um-carbono apenas 677C → T tem se mostrado bastante consistente e afeta o status de folato e homocisteína ao longo da vida, enquanto que os dados de outros SNPs são incoerentes. Os polimorfismos 677C → T e 1298A → C no gene da metilenotetrahidrofolato redutase têm sido estudados em maior detalhe em relação ao risco ao câncer colorretal (Sharp & Little, 2004; Hazra *et al.*, 2007; Koushik *et al.*, 2006).

A importância da baixa penetrância de polimorfismos genéticos como fatores preditivos bem como marcadores prognósticos para distúrbios tornou-se evidente após os avanços no seqüenciamento do genoma humano (Ford & Easton, 1995). Polimorfismos genéticos e micronutrientes envolvidos no metabolismo um-carbono ainda são intensivamente estudados em diferentes cânceres a fim de averiguar como esses fatores podem influenciar na síntese, reparo e metilação do DNA (Melnik *et al.*, 1999).

Tabela 4: Polimorfismos de MTHFR (C677T e A1298C) em estudos de caso-controle em diferentes populações, em pacientes com câncer de mama*. (Adaptado de Qi *et al.*, 2010).

Referência (primeiro autor)	Ano	País	Etnia	Casos			Controles			Casos			Controles		
				CC	CT	TT	CC	CT	TT	AA	AC	CC	AA	AC	CC
Sharp	2002	Reino unido	Caucasianos	30	19	05	25	21	11	27	25	03	24	25	11
Ergul	2003	Turquia	Caucasianos	60	41	17	94	87	12	50	48	20	90	85	18
Shrubsole	2004	China	Leste da Ásia	374	555	183	387	577	196	768	311	42	824	344	40
Försti	2004	Finlândia	Caucasiano	134	81	08	181	104	13	94	102	27	133	127	38
Le Marchand	2004	EUA	Mistura	573	479	137	1211	920	283	741	372	77	1493	801	120
Qi	2004	China	Leste da Ásia	42	104	71	59	105	54	155	58	04	144	71	03
Justenhoven	2005	Alemanha	Caucasianos	249	274	61	261	279	93	273	256	53	295	266	73
Chou	2006	China	Leste da Ásia	73	51	18	132	120	33	104	30	08	172	95	18
Xu	2007	EUA	Mistura	398	476	189	440	509	155	558	417	87	536	457	110
Lissowska	2007	Polônia	Caucasianos	982	815	177	1132	915	235	892	874	220	1086	941	251
Kan	2007	China	Leste da Ásia	74	29	22	65	29	09	70	41	14	61	32	08
Stevens	2007	EUA	Mistura	208	224	62	236	193	65	224	228	42	252	201	40
Inoue	2008	Cingapura	Leste da Ásia	239	120	21	393	226	43	225	139	16	387	234	41
Kotsopoulos	2008	Canadá	Caucasianos	383	421	140	252	341	87	466	390	85	398	309	73
Cheng	2008	China	Leste da Ásia	185	133	31	268	221	41	207	125	19	310	207	17
Ericson	2009	Sweden	Caucasianos	255	235	50	531	452	91	242	242	57	487	480	105
Gao	2009	China	Leste da Ásia	202	305	117	235	301	88	446	169	09	425	188	11
Ma	2009	Japão	Leste da Ásia	124	183	81	115	188	84	254	119	15	256	116	15
Platek	2009	EUA	Mistura	429	446	119	788	795	219	443	402	83	842	758	181

Referência (primeiro autor)	Ano	País	Etnia	Casos			Controles			Casos			Controles		
				CC	CT	TT	CC	CT	TT	AA	AC	CC	AA	AC	CC
Ma	2009	Brasil	Mistura	225	188	45	222	187	49	269	168	21	279	157	22
Campbel	2002	Reino Unido	Caucasianos	140	162	33	118	92	23	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Semenza	2003	Reino Unido	Caucasianos	42	58	05	112	111	24	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Langsenlehner	2003	Áustria	Caucasianos	208	222	64	215	215	65	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lee	2004	Coréia	Leste da Ásia	58	96	32	50	80	17	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Grieu	2004	Austrália	Caucasianos	166	141	27	242	259	50	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lin	2004	China	Leste da Ásia	43	38	07	173	145	24	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kalemi	2005	Grécia	Caucasianos	19	16	07	23	20	08	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Deligezer	2005	Turquia	Caucasianos	98	68	23	128	83	12	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hekim	2007	Turquia	Caucasianos	22	16	02	38	26	04	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Macis	2007	Itália	Caucasianos	14	20	12	28	41	11	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Yu	2007	China	Leste da Ásia	56	54	09	225	170	25	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Reljic	2007	Croácia	Caucasianos	40	44	09	27	34	04	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Suzuki	2008	Japão	Leste da Ásia	150	220	84	338	425	146	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Langsenlehner	2008	Áustria	Caucasianos	51	43	11	40	48	17	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Henríquez- Hernández	2009	Espanha	Caucasianos	52	65	18	107	138	47	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Çam	2009	Turquia	Caucasianos	48	49	13	47	42	06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Maruti	2009	EUA	Mistura	133	139	46	301	284	62	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Li	2009	China	Leste da Ásia	38	17	10	90	50	03	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Yuan	2009	China	Leste da Ásia	16	35	29	32	35	13	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Jin	2009	China	Leste da Ásia	18	20	03	49	41	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bentley	2010	EUA	Caucasianos	346	402	191	429	592	205	ND	ND	ND	ND	ND	ND

* A partir de Campbell *et al.*, 2002 não há dados disponíveis referentes ao polimorfismo A1298C.

4. OBJETIVOS

Este estudo tem por objetivo avaliar a frequência dos polimorfismos R72P (gene TP53) e C677T / A1298C (gene MTHRF) em uma amostra da população judaica Ashkenazi da região de Porto Alegre, Rio Grande do Sul e comparar com a frequência obtida em um grupo controle.

A partir dos resultados obtidos, buscaremos avaliar estatisticamente um possível envolvimento destes polimorfismos com o risco ao câncer, através de dados pessoais e familiares que constam em formulário preenchido pelas participantes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves-Silva J, Santos MS, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt H-J, Pena SDJ, Prado VF (2000) The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet* 67:444-461.

Anonymous. AAA statement on race. *Am Anthropol* 1998: 100: 712–713.

Anonymous. Genes, drugs and race. *Nat Genet* 2001: 29 (3): 239–240.

Ara S, Lee PSY, Hansen MF, Saya H (1990) Codon 72 polymorphism of the TP53 gene. *Nucleic Acids Res* 18:4961.

Arbel-Alon S, Menezes J, Feldman N, Glezerman M, Yeregin L, Friedman E (2002) Codon 72 polymorphism of p53 in Israeli Jewish cervical cancer patients and healthy women. *Int J Gynecol Cancer* 12:741–744.

Arcos-Burgos M, Muenke M (2002) Genetics of population isolates. *Clin Genet* 61:233–247.

Arnold Y (1998) Our Gang. *The Jewish Week* n 3.

Aronson SM (2001) Early epidemiological studies of Tay-Sachs disease. *Adv Genet* 44:25–31.

Azevedo FS, Silva KM, Da Silva MC, Lima AM, Fortuna CM, Santos MG (1981) Genetic and anthropological studies in the island of Itaparica, Bahia, Brazil. *Hum Hered* 31:353-357.

Bagley PJ, Selhub J (1998) A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13217–13220.

Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Willson JK, Vogelstein B (1990) Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 249:912-915.

Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW (2004) Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol* 30(6):593-601.

Balmain A, Gray J, Ponder B (2003) The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet* 33(Suppl): 238–44.

Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP (1998) Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 72:141–196.

Baynes C, Healey CS, Pooley KA, Scollen S, Luben RN, Thompson DJ, Pharoah PD, Easton DF, Ponder BA, Dunning AM, SEARCH breast cancer study (2007) Common variants in the ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 cancer susceptibility genes are unlikely to increase breast cancer risk. *Breast Cancer Res* 9:R27.

Beckman G, Birgander R, Sjölander A, Saha N, Holmberg PA, Kivelä A, Beckman L (1994) Is p53 polymorphism maintained by natural selection? *Hum Hered* 44:266–270.

Behar DM, Hammer MF, Garrigan D, Villems R, Bonne-Tamir B, Richards M, Gurwitz D, Rosengarten D, Kaplan ME, DellaPergola S, Quintana-Murci L, Skorecki K (2004) mtDNA evidence for a genetic bottleneck in the early history of the Ashkenazi Jewish population. *Eur J Hum Genet* 5:355-64.

Behar DM, Rosset S, Tzur S, Selig S, Yudkovsky G, Bercovici S, Kopp JB, Winkler CA, Nelson GW, Wasser WG, Skorecki K (2010) African ancestry allelic variation at the MYH9 gene contributes to increased susceptibility to non-diabetic end-stage kidney disease in Hispanic Americans. *Hum Mol Genet* 19(9):1816-1827.

Bentley AR, Raiszadeh F, Stover PJ, Hunter DJ, Hankinson SE, Cassano PA (2010) No association between cSHMT genotypes and the risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Eur J Clin Nutr* 64:108–110.

Bergamaschi D, Gasco M, Hiller L, Sullivan A, Syed N, Trigiante G, Yulug I, Merlano M, Numico G, Comino A, Attard M, Reelfs O, Gusterson B, Bell AK, Heath V, Tavassoli M, Farrell PJ, Smith P, Lu X, Crook T (2003) p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis. *Cancer Cell* 3:387–402.

Berns A (2006) Cancer biology: can less be more for p53? *Nature* 443:153–154

Bird AP, Wolffe AP (1999) Methylation-induced repression--belts, braces, and chromatin. *Cell* 99:451–454.

Birgander R, Sjalander A, Zhou Z, Fan C, Beckman L, Beckman G (1996) p53 polymorphisms and haplotypes in nasopharyngeal cancer. *Hum Hered* 46:49–54.

Blount BC, Mack MM, Wehr CM, MacGregor JT, Hiatt RA, Wang G, Wickramasinghe SN, Everson RB, Ames BN (1997) Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: Implications for cancer and neuronal damage. *P Natl Acad Sci USA* 94:3290–3295.

Boccia S, Hung R, Ricciardi G, Gianfagna F, Ebert MP, Fang JY, Gao CM, Götze T, Graziano F, Lacasaña-Navarro M, Lin D, López-Carrillo L, Qiao YL, Shen H, Stolzenberg-Solomon R, Takezaki T, Weng YR, Zhang FF, van Duijn CM, Boffetta P, Taioli E (2008) Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: a HuGE-GSEC review. *Am J Epidemiol* 167:505–516.

Bonafé M, Barbi C, Storci G, Salvioli S, Capri M, Olivieri F, Valensin S, Monti D, Gonos ES, De Benedictis G, Franceschi C (2002) What studies on human longevity tell us about the risk for cancer in the oldest old: data and hypotheses on the genetics and immunology of centenarians. *Exp Gerontol* 37:1263–1271.

Bourdon JC, Laurenzi VD, Melino G, Lane D (2003) p53: 25 years of research and more questions to answer. *Cell Death Differ* 10:397-399.

Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG (1995) A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 274:1049-1057.

Boyle P, Levin B (2008) World Cancer Report, IARC Press, International Agency for Research on Cancer.

Branda RF, Blickensderfer DB (1993) Folate deficiency increases genetic damage by alkylating agents and gamma-irradiation in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Res* 53:5401—5408.

Brockton NT (2006) Localized depletion: the key to CRC risk mediated by MTHFR genotype and folate? *Cancer Causes Control* 17:1005-1016.

Brooks LA, Tidy JA, Gusterson B, Hiller L, O'Nions J, Gasco M, Marin MC, Farrell PJ, Kaelin WG Jr, Crook T (2000) Preferential retention of codon 72 arginine p53 in squamous cell carcinomas of the vulva occurs in cancers positive and negative for human papillomavirus. *Cancer Res* 60:6875–6877.

Brumer A (1994) Identidade em mudança. Pesquisa sociológica sobre os judeus do Rio Grande do Sul.

Burchard EG, Borrell LN, Choudhry S, Naqvi M, Tsai HJ, Rodriguez-Santana JR, Chapela R, Rogers SD, Mei R, Rodriguez-Cintron W, Arena JF, Kittles R, Perez-Stable EJ, Ziv E, Risch N (2005) Latino populations: a unique opportunity for the study of race, genetics, and social environment in epidemiological research. *Am J Public Health* 95(12):2161–2168.

Burchard EG, Ziv E, Coyle N, Gomez SL, Tang H, Karter AJ, Mountain JL, Pérez-Stable EJ, Sheppard D, Risch N (2003) The importance of race and ethnic

background in biomedical research and clinical practice. *N Engl J Med* 348(12):1170–1175.

Buyru N, Altinisik J, Demokan S, Dalay N (2007) p53 genotypes and haplotypes associated with risk of breast cancer. *Cancer Detect Prev* 31:207–213.

Buyru N, Tigli H, Dalay N (2003) p53 codon 72 polymorphism in breast cancer. *Oncol Rep* 10:711–714.

Çam R, Eroglu A, Egin Y, Akar N (2009) Dihydrofolate reductase (DHRF) 19-bp intron-1 deletion and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 115:431–432.

Cameron EE, Bachman KE, Myohanen S, Herman JG, Baylin SB (1999) Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the re-expression of genes silenced in cancer. *Nat Genet* 21:103–107.

Campbell IG, Baxter SW, Eccles DM, Choong DY (2002) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Res* 4(6):R14.

Carlson CS, Eberle MA, Rieder MJ, Smith JD, Kruglyak L, Nickerson DA (2003) Additional SNPs and linkage-disequilibrium analyses are necessary for whole genome association studies in humans. *Nat Genet* 33:518–521.

Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ (2001) The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* 68:281–286.

Cavallone L, Arcand SL, Maugard C, Ghadirian P, Mes-Masson AM, Provencher D, Tonin PN (2008) Haplotype analysis of TP53 polymorphisms, Arg72Pro and Ins16, in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers of French Canadian descent. *BMC Cancer* 8:96.

Charrow J (2004) Ashkenazi Jewish genetic disorders. *Familial Cancer* 3: 201–206.

Chen J, Giovannucci EL, Hunter DJ (1999) MTHFR polymorphism, methyl-replete diets and the risk of colorectal carcinoma and adenoma among U.S. men and women: an example of gene-environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J Nutr* 129:560-564.

Cheng CW, Yu JC, Huang CS, Shieh JC, Fu YP, Wang HW, Wu PE, Shen CY (2008) Polymorphism of cytosolic serine hydroxymethyltransferase, estrogen and breast cancer risk among Chinese women in Taiwan. *Breast Cancer Res Treat* 111:145–155.

Cheng P, Schmutte C, Cofer KF, Felix JC, Yu MC, Dubeau L (1997) Alterations in DNA methylation are early, but not initial, events in ovarian tumorigenesis. *Br J Cancer* 75:396-402.

Cheung AM, Elia A, Tsao MS, Done S, Wagner KU, Hennighausen L, Hakem R, Mak TW (2004) Brca2 deficiency does not impair mammary epithelium development but promotes mammary adenocarcinoma formation in p53(+/-)mutant mice. *Cancer Res* 64:1959-1965.

Cho Y, Svetlana G, Jeffrey PD, Pavletich NP (1994) Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations. *Science* 265:346-355.

Choi SW, Mason JB (2000) Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* 130:129–32.

Chou YC, Wu MH, Yu JC, Lee MS, Yang T, Shih HL, Wu TY, Sun CA (2006) Genetic polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene, plasma folate levels, and breast cancer susceptibility: a case-control study in Taiwan. *Carcinogenesis* 27:2295–2300.

Christensen KD, Roberts JS, Royal CD, Fasaye GA, Obisesan T, Cupples LA, Whitehouse PJ, Butson MB, Linnenbringer E, Relkin NR, Farrer L, Cook-Deegan R,

Green RC (2008) Incorporating ethnicity into genetic risk assessment for Alzheimer disease: the REVEAL study experience. *Genet Med* 10:207–214.

Collins FS, Barker AD (2007) Mapping the cancer genome. Pinpointing the genes involved in cancer will help chart a new course across the complex landscape of human malignancies. *Sci Am* 296:50–57.

Cooper RS, Kaufman JS, Ward R (2003) Race and genomics. *N Engl J Med* 348(12): 1166–1170.

Cooper RS, Tayo B, Zhu X (2008) Genome-wide association studies: implications for multiethnic samples. *Hum Mol Genet* 17:R151–R155.

Costa S, Pinto D, Pereira D, Rodrigues H, Cameselle-Teijeiro J, Medeiros R, Schmitt F (2008) Importance of TP53 codon 72 and intron 3 duplication 16 bp polymorphisms in prediction of susceptibility on breast cancer. *BMC Cancer* 8:32.

Cox DG, Deer D, Guo Q, Tworoger SS, Hankinson SE, Hunter DJ, De Vivo I (2007) The p53 Arg72Pro and MDM2-309 polymorphisms and risk of breast cancer in the nurses' health studies. *Cancer Causes Control* 18:621–625.

Croce CM (2008) Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 358:502–511.

Culmsee C, Landshamer S (2006) Molecular insights into mechanisms of the cell death program: role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res* 3:269–283

Cuperschmid EM (1977) Judeus entre dois mundos: A formação da comunidade judaica de Belo Horizonte; 1922-1961 [tese]. Belo Horizonte: Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Minas Gerais.

Curtin K, Bigler J, Slattery ML, Caan B, Potter JD, Ulrich CM (2004) MTHFR C677T and A1298C polymorphisms: diet, estrogen, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:285–292.

Curtin PD (1969) *The Slave Atlantic Trade: a Census*. The University of Wisconsin Press, Milwaukee.

Czeizel AE (1993) Prevention of congenital abnormalities by periconceptual multivitamin supplementation. *BMJ* 306:1645-1649.

Damin AP, Frazzon AP, Damin DC, Roehe A, Hermes V, Zettler C, Alexandre CO (2006) Evidence for an association of TP53 codon 72 polymorphism with breast cancer risk. *Cancer Detect Prev* 30(6):523-529.

Davis CD, Uthus EO (2004) DNA Methylation, Cancer Susceptibility, and Nutrient Interactions. *Experimental Biology and Medicine* 229:988–995.

de Bree A, Verschuren WM, Björke-Monsen AL, van der Put NM, Heil SG, Trijbels FJ, Blom HJ (2003) Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Clin Nutr* 77:687–693.

De Mattia E, Toffoli G (2009) C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalisation. *Eur J Cancer* 45(8):1333-1351.

de Moura Gallo CV, Azevedo E, Silva Mendonça G, de Moraes E, Olivier M, Hainaut P (2005) TP53 mutations as biomarkers for cancer epidemiology in Latin America: current knowledge and perspectives. *Mutat Res* 589(3):192-207.

Delacalle-Martin O, Fabregat V, Romero M, Soler J, Vives J, Yague J (1990) Acc II polymorphism of the p53 gene. *Nucleic Acids Res* 18:4963.

Deligezer U, Akisik EE, Dalay N (2005) Homozygosity at the C677T of the MTHFR gene is associated with increased breast cancer risk in the Turkish population. *In Vivo* 19:889–893.

DellaPergola S (2001) Jewish Demography 2001. In: DellaPergola S, Even S, eds. Papers in Jewish Demography. Jerusalem: The Hebrew University of Jerusalem Press. p. 11–33.

DellaPergola S (2003) Jewish Demography: Facts, Outlook, Challenges. Jewish People Policy Planning Institute.

Diamond JM (1994) Human genetics: Jewish lysosomes. *Nature* 368:291–292.

Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC, George DL, Murphy M (2003) The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 33:357–365.

Duthie SJ (1999) Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability. *Br Med Bull* 55(3):578-592.

Egan KM, Newcomb PA, Longnecker MP, Trentham-Dietz A, Baron JA, Trichopoulos D, Stampfer MJ, Willett WC (1996) Jewish religion and risk of breast cancer. *Lancet* 347:1645-1646.

Ehrlich M (2002) DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene* 21:5400–5413.

Ehrlich M, Jiang G, Fiala E, Dome JS, Yu MC, Long TI, Youn B, Sohn OS, Widschwendter M, Tomlinson GE, Chintagumpala M, Champagne M, Parham D, Liang G, Malik K, Laird PW (2002) Hypomethylation and hypermethylation of DNA in Wilms tumors. *Oncogene* 21(43):6694-6702.

El-Deiry WS (2003) The role of p53 in chemosensitivity and radiosensitivity. *Oncogene* 22:7486-7495.

Elledge SJ, Hannon GJ (2005) An open letter to cancer researchers. *Science* 310:439–441.

Engleman UZ (1960) Sources of Jewish statistics. In: Finkelstein J (ed) *The Jews: their history, culture and religion*. v. 2. Harper, New York, p. 1172–1197.

Ergul E, Sazci A, Utkan Z, Canturk NZ (2003) Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer. *Tumour Biol* 24:286–290.

Ericson U, Sonestedt E, Ivarsson MI, Gullberg B, Carlson J, Olsson H, Wirfält E (2009) Folate intake, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and breast cancer risk in women from the Malmö Diet and Cancer cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18:1101–1110.

Esteller M, Sanchez-Cespedes M, Rosell R, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG (1999) Detection of aberrant promotor hypermethylation of tumour suppressor genes in serum from non-small-cell lung cancer patients. *Cancer Res* 59:67-70.

Estimativa 2010 – Incidência de câncer no Brasil. Brasília: Instituto Nacional do Câncer (INCA), Ministério da Saúde, 2009. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/>. Acessado em: 24 Mar. 2011.

Fallon UB (2003) Commentary: colon cancer, folate and genetic status. *Int J Epidemiol* 32:67–70.

Fan R, Wu MT, Miller D, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, Christiani DC (2000) The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:1037–1042.

Fay JC, Wu CI (1999) A human population bottleneck can account for the discordance between patterns of mitochondrial versus nuclear DNA variation. *Mol Biol Evol* 16:1003– 1005.

Feinberg AP, Cui H, Ohlsson R (2002) DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms. *Semin Cancer Biol* 12:389–398.
Feinberg AP, Vogelstein B (1983) Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 301:89–92.

Feldman GE (2001) Do Ashkenazi Jews have a Higher than expected Cancer Burden? Implications for Cancer Control Prioritization Efforts. *Isr Med Assoc J* 3(5):341-346.

Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ (1989) The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 57:1083-1093.

Ford D, Easton DF (1995) The genetics of breast and ovarian cancer. *Br J Cancer* 72:805–812.

Försti A, Angelini S, Festa F, Sanyal S, Zhang Z, Grzybowska E, Pamula J, Pekala W, Zientek H, Hemminki K, Kumar R (2004) Single nucleotide polymorphisms in breast cancer. *Oncol Rep* 11:917–922.

Fraikor AL (1977) Tay-Sachs disease: genetic drift among the Ashkenazim Jews. *Soc Biol* 24:117–134.

Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R (1995) A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10:111–113.

Furihata M, Shuin T, Takeuchi T, Sonobe H, Ohtsuki Y, Akiyama Y, Yuasa Y (2002) p53 mutation arising in Arg72 allele in the tumorigenesis and development of carcinoma of the urinary tract. *Clin Cancer Res* 8:1192–1198.

Gabriel J (2007) The biology of cancer. 2nd ed. chapter 4, John Wiley & Sons Ltd, England, 219p.

Gama-Sosa MA, Slagel VA, Trewyn RW, Oxenhandler R, Kuo KC, Gehrke CW, Ehrlich M (1983) The 5-methylcytosine content of DNA from human tumors. *Nucleic Acids Res* 11:6883–6894.

Gao CM, Tang JH, Cao HX, Ding JH, Wu JZ, Wang J, Liu YT, Li SP, Su P, Matsuo K, Takezaki T, Tajima K (2009) MTHFR polymorphisms, dietary folate intake and breast cancer risk in Chinese women. *J Hum Genet* 54:414–418.

Garcia-Closas M, Kristensen V, Langerod A, Qi Y, Yeager M, Burdett L, Welch R, Lissowska J, Peplonska B, Brinton L, Gerhard DS, Gram IT, Perou CM, Borresen-Dale AL, Chanock S (2007) Common genetic variation in TP53 and its flanking genes, WDR79 and ATP1B2, and susceptibility to breast cancer. *Int J Cancer* 121:2532–2538.

Gaudet MM, Gammon MD, Bensen JT, Sagiv SK, Shantakumar S, Teitelbaum SL, Eng SM, Neugut AI, Santella RM (2008) Genetic variation of TP53, polycyclic aromatic hydrocarbon-related exposures, and breast cancer risk among women on Long Island, New York. *Breast Cancer Res Treat* 108:93–99.

Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D, Kasinetz L, Kadouri E, Friedman E (2000) Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur Cancer* 36:2313-2316.

Giaccia AJ, Kastan MB (1998) The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals. *Genes Dev* 12:2973-2983.

Giovannucci E (2002) Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J Nutr* 132(8 Suppl):2350S–2355S.

Gochhait S, Bukhari SI, Bairwa N, Vadhera S, Darvishi K, Raish M, Gupta P, Husain SA, Bamezai RN (2007) Implication of BRCA2 -26G>A 5' untranslated region polymorphism in susceptibility to sporadic breast cancer and its modulation by p53 codon 72 Arg>Pro polymorphism. *Breast Cancer Res* 9:R71.

Goldstein DB, Reich DE, Bradman N, Usher S, Seligsohn U, Peretz H (1999) Age estimates of two common mutations causing factor XI deficiency: recent genetic drift is not necessary for elevated disease incidence among Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet* 64: 1071– 1075.

Goodman RM (1979a) *Genetic Disorders Among the Jewish People*. Baltimore, Md: Johns Hopkins University Press.

Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R (1994) Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 7:195–200.

Graziano F, Kawakami K, Ruzzo A, Watanabe G, Santini D, Pizzagalli F, Bisonni R, Mari D, Floriani I, Catalano V, Silva R, Tonini G, Torri V, Giustini L, Magnani M (2006) Methylenetetrahydrofolate reductase 677C/T gene polymorphism, gastric cancer susceptibility and genomic DNA hypomethylation in an at-risk Italian population. *Int J Cancer* 118:628–632.

Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC (1994) Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 54:4855-4878.

Grieu F, Powell B, Beilby J, Iacopetta B (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase polymorphisms are not associated with breast cancer risk or phenotype. *Anticancer Res* 24:3215–3219.

Grunau C, Sanchez C, Ehrlich M, van der Bruggen P, Hindermann W, Rodriguez C, Krieger S, De Sario A (2005) Frequent DNA hypomethylation of human juxtacentromeric BAGE loci in cancer. *Genes Chrom Cancer* 43:11–24.

Guinotte CL, Burns MG, Axume JA, Hata H, Urrutia TF, Alamilla A, McCabe D, Singgih A, Cogger EA, Caudill MA (2003) Methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T variant modulates folate status response to controlled folate intakes in young women. *J Nutr* 133:1272–1280.

Gutfreind IA (2004) *Imigração judaica no Rio Grande do Sul. Da memória para a história*.

Hainaut P, Soussi T, Shomer B, Hollstein M, Greenblatt M, Hovig E, Harris CC, Montesano R (1997) Database of p53 gene somatic mutations in human tumors cell lines: updated compilation and future prospects. *Nucleic Acids Res* 25:151–157.

Hainaut P, Wiman KG (2007) (eds.) 25 Years of p53 Research. p. 41-163, Springer.

Hainaut P, Hollstein M (2000) p53 and human cancer: the first ten thousand mutations. *Adv Cancer Res* 77:81-137.

Harris CC (1993) p53 - at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science* 262:1980-1981.

Harris CC (1993) p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science* 262:1980–1981.

Harris CC (1996) The 1995 Walter Hubert Lecture--molecular epidemiology of human cancer: insights from the mutational analysis of the p53 tumour-suppressor gene. *Br J Cancer* 73(3):261–269.

Harris N, Brill E, Shohat O, Prokocimer M, Wolf D, Arai N, Rotter V (1986) Molecular basis for heterogeneity of the human p53 protein. *Mol Cell Biol* 6:4650-4656.

Harris, H (1966) Enzyme polymorphisms in man. *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 164: 298–310.

Hartman M, Loy EY, Ku CS, Chia KS (2010) Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. *Lancet Oncol* 11(4):383-90.

Hazra A, Wu K, Kraft P, Fuchs CS, Giovannucci EL, Hunter DJ (2007) Twenty-four non-synonymous polymorphisms in the one-carbon metabolic pathway and risk of colorectal adenoma in the Nurses' Health Study. *Carcinogenesis* 28:1510–1519.

Hekim N, Ergen A, Yaylim I, Yilmaz H, Zeybek U, Ozturk O, Isbir T (2007) No association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer. *Cell Biochem Funct* 25:115–117.

Heng HH (2007) Cancer genome sequencing: the challenges ahead. *Bioessays* 29:783–794.

Henríquez-Hernández LA, Murias-Rosales A, Hernández González A, Cabrera De León A, Díaz-Chico BN, Mori De Santiago M, Fernández Pérez L (2009) Gene polymorphisms in TYMS, MTHFR, p53 and MDR1 as risk factors for breast cancer: a case control study. *Oncol Rep* 22:1425–1433.

Hollstein M, Rice K, Greenblatt MS, Soussi T, Fuchs R, Sorlie T, Hovig E, Smith-Sorensen B, Montesano R, Harris CC (1994) Database of p53 gene somatic mutations in human tumours and cell lines. *Nucleic Acids Res* 22:3551–3555.

Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC (1991) p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49–53.

Huang XE, Hamajima N, Katsuda N, Matsuo K, Hirose K, Mizutani M, Iwata H, Miura S, Xiang J, Tokudome S, Tajima K (2003) Association of p53 codon Arg72Pro and p73 G4C 14-to- A4T14 at Exon 2 genetic polymorphisms with the risk of Japanese breast cancer. *Breast cancer* 10(4):307–311.

Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, Cox DG, Yeager M, Hankinson SE, Wacholder S, Wang Z, Welch R, Hutchinson A, Wang J, Yu K, Chatterjee N, Orr N, Willett WC, Colditz GA, Ziegler RG, Berg CD, Buys SS, McCarty CA, Feigelson HS, Calle EE, Thun MJ, Hayes RB, Tucker M, Gerhard DS, Fraumeni JF Jr, Hoover RN, Thomas G, Chanock SJ (2007b) A genomewide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* 39:870–874.

Hunter DJ, Thomas G, Hoover RN, Chanock SJ (2007a) Scanning the horizon: what is the future of genome-wide association studies in accelerating discoveries in cancer etiology and prevention? *Cancer Causes Control* 18:479–484.

Hussain SP, Harris CC (1998) Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Perspect Cancer Res* 58:4023-4037.

Inoue M, Robien K, Wang R, Van Den Berg DJ, Koh WP, Yu MC (2008) Green tea intake, MTHFR/TYMS genotype and breast cancer risk: the Singapore Chinese Health Study. *Carcinogenesis* 29:1967–1972.

Institute of Medicine and National Academy of Sciences USA (1998) Dietary reference intakes for folate, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline: vol. 1. Washington (DC): National Academy Press; 592p.

Instituto Nacional do Câncer (INCa). Disponível em: <http://www.inca.gov.br/> (Acessado em 20/04/2011).

International Agency for Research on Cancer (IARC). Disponível em: <http://www.iarc.fr/> (Acessado em 22/05/2011).

Jackson K, Yu M, Arakawa K, Fiala E, Youn B, Fiegl H, Muller-Holzner E, Widschwendter M, Ehrlich M (2004) DNA hypomethylation is prevalent even in low-grade breast cancers. *Cancer Biol Ther* 3:1225–1231.

Jacobs WB, Kaplan DR, Miller FD (2006) The p53 family in nervous system development and disease. *J Neurochem* 97:1571–1584

Jacques PF, Kalmbach R, Bagley PJ, Russo GT, Rogers G, Wilson PW, Rosenberg IH, Selhub J (2002) The relationship between riboflavin and plasma total homocysteine in the Framingham Offspring cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr* 132(2):283–288.

Jakubowska A, Gronwald J, Menkiszak J, Górski B, Huzarski T, Byrski T, Edler L, Lubiński J, Scott RJ, Hamann U (2007) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms modify BRCA1-associated with breast and ovarian cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 104:299–308

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61(2):69-90.

Jin X, Wu X, Roth JA, Amos CI, King TM, Branch C, Honn SE, Spitz MR (1995) Higher lung cancer risk for younger African-Americans with the Pro/Pro p53 genotype. *Carcinogenesis* 16:2205–2208.

Jin ZZ, Lu Q, Ge DH, Zong M, Zhu QH (2009) Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism on C-erbB-2 methylation status and its association with cancer. *Mol Med Rep* 2:283–289.

John EM, Hopper JL, Beck JC, Knight JA, Neuhausen SL, Senie RT, Ziogas A, Andrulis IL, Anton-Culver H, Boyd N, Buys SS, Daly MB, O'Malley FP, Santella RM, Southey MC, Venne VL, Venter DJ, West DW, Whittemore AS, Seminara D, Breast Cancer Family Registry (2004) The Breast Cancer Family Registry: an infrastructure for cooperative multinational, interdisciplinary and translational studies of the genetic epidemiology of breast cancer. *Breast Cancer Res* 6(4):375-389.

Johnson N, Fletcher O, Palles C, Rudd M, Webb E, Sellick G, dos Santos Silva I, McCormack V, Gibson L, Fraser A, Leonard A, Gilham C, Tavitigian SV, Ashworth A, Houlston R, Peto J (2007) Counting potentially functional variants in BRCA1, BRCA2 and ATM predicts breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet* 16:1051–1057.

Jones PA, Baylin SB (2002) The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 3:415–428.

Jones PA, Gonzalzo ML (1997) Altered DNA methylation and genome instability: a new pathway to cancer? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:2103–2105.

Jones PA, Laird PW (1999) Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 21:163-167.

Jones PA, Takai D (2001) The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Science* 293:1068–1070.

Jones PL, Veenstra GJ, Wade PA, Vermaak D, Kass SU, Landsberger N, Strouboulis J, Wolffe AP (1998) Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet* 19:187–191.

Jonkers J, Meuwissen R, van der GH, Peterse H, van V, Berns A (2001) Synergistic tumor suppressor activity of BRCA2 and p53 in a conditional mouse model for breast cancer. *Nat Genet* 29:418-425.

Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL (2000) *Genética Médica*. Editora Guanabara Koogan, 2 ed, Rio de Janeiro.

Jorde, L.B., Carey, J.C., Bamshad, M.J. and White, R.L. (2000) Cancer genetics. In: *Medical Genetics* (ed W. Schmitt), 2nd edn, Mosby, Inc., St Louis, pp. 221–238.

Justenhoven C, Hamann U, Pierl CB, Rabstein S, Pesch B, Harth V, Baisch C, Vollmert C, Illig T, Bruning T, Ko Y, Brauch H (2005) One-carbon metabolism and breast cancer risk: no association of MTHFR, MTR, and TYMS polymorphisms in the GENICA study from Germany. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:3015–3018.

Kalemi TG, Lambropoulos AF, Gueorguiev M, Chrisafi S, Papazisis KT, Kotsis A (2005) The association of p53 mutations and p53 codon 72, Her 2 codon 655 and MTHFR C677T polymorphisms with breast cancer in Northern Greece. *Cancer Lett* 222:57–65.

Kan XX, Zou TN, Wu XY, Wang X (2007) Association between mTHFR genotype polymorphism and breast cancer susceptibility in human population from Yunnan. *Cancer Res Prev Treat* 34:716–718

Katiyar S, Thelma BK, Murthy NS, Hedau S, Jain N, Gopalkrishna V, Husain SA, Das BC (2003) Polymorphism of the p53 codon 72 arg/pro and the risk of HPV type 16/18-associated cervical and oral cancer in India. *Mol Cell Biochem* 252:117–124.

Kawaguchi H, Ohno S, Araki K, Miyazaki M, Saeki H, Watanabe M, Tanaka S, Sugimachi K (2000) p53 polymorphism in human papillomavirus-associated esophageal cancer. *Cancer Res* 60:2753–2755.

Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Watanabe J, Hayashi S (1993) Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis* 14:1085–1089.

Keku T, Millikan R, Worley K, Winkel S, Eaton A, Biscocho L, Martin C, Sandler R (2002) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase codon 677 and 1298 polymorphisms and colon cancer in African Americans and whites. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11:1611–1621.

Khadang B, Fattahi MJ, Talei A, Dehaghani AS, Ghaderi A (2007) Polymorphism of TP53 codon 72 showed no association with breast cancer in Iranian women. *Cancer Genet Cytogenet* 173:38–42.

Kim YI (1999) Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications. *J Nutr Biochem* 10:66–88.

Kim YI (2003) Role of folate in colon cancer development and progression. *J Nutr* 133(11 Suppl1):3731S–3739S.

Kim YI (2005) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and pharmacogenetics: a new role of single nucleotide polymorphisms in the folate metabolic pathway in human health and disease. *Nutr Rev* 63:398-407.

Kim YI, Baik HW, Fawaz K, Knox T, Lee YM, Norton R, Libby E, Mason JB (2001) Effects of folate supplementation on two provisional molecular markers of colon cancer: a prospective, randomized trial. *Am J Gastroenterol* 96:184–195.

Klaes R, Ridder R, Schaefer U, Benner A, von Knebel Doeberitz M (1999) No evidence of p53 allele-specific predisposition in human papillomavirus associated cervical cancer. *J Mol Med* 77:299–302.

Klug SJ, Wilmotte R, Santos C, Almonte M, Herrero R, Guerrero I, Caceres E, Peixoto-Guimaraes D, Lenoir G, Hainaut P, Walboomers JM, Muñoz N (2001) TP53 polymorphism, HPV infection, and risk of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:1009–1012.

Koifman S, Koifman RJ (2001) Breast cancer mortality among Ashkenazi Jewish women in São Paulo and Porto Alegre, Brazil. *Breast Cancer Res* 3(4):270-275.

Kono S, Chen K (2005) Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and CRC and adenoma. *Cancer Sci* 96:535-542.

Kopnin BP (2000) Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 65:2–27.

Kotsopoulos J, Zhang WW, Zhang S, McCready D, Trudeau M, Zhang P, Sun P, Narod SA (2008) Polymorphisms in folate metabolizing enzymes and transport proteins and the risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 112:585–593.

Koushik A, Kraft P, Fuchs CS, Hankinson SE, Willett WC, Giovannucci EL, Hunter DJ (2006) Nonsynonymous polymorphisms in genes in the one-carbon metabolism pathway and associations with colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:2408–2417.

Kundu TK, Rao MR (1999) CpG islands in chromatin organization and gene expression. *J Biochem* 125:217-222.

Laloo F, Cochrane S, Bulman B, Varley J, Elles R, Howell A, Evans DGR (1998) An evaluation of common breast cancer gene mutations in a population of Ashkenazi Jews. *J Med Genet* 35:10-12.

Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA (1998) Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 48:28-29.

Lane D (1992) p53, guardian of the genome. *Nature* 358:15-16.

Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 278:261-263.

Langerod A, Bukholm IR, Bregard A, Lonning PE, Andersen TI, Rognum TO, Meling GI, Lothe RA, Borresen-Dale AL (2002) The TP53 codon 72 polymorphism may affect the function of TP53 mutations in breast carcinomas but not in colorectal carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 11:1684–1688.

Langsenlehner T, Renner W, Yazdani-Biuki B, Langsenlehner U (2008) Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled metaanalysis. *Breast Cancer Res Treat* 107:459–460.

Langsenlehner U, Krippel P, Renner W, Yazdani-Biuki B, Wolf G, Wascher TC, Paulweber B, Weitzer W, Samonigg H (2003) The common 677C → T gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene is not associated with breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 81:169–172.

Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A (2006) Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 131:1271–1283.

Le Marchand L, Haiman CA, Wilkens LR, Kolonel LN, Henderson BE (2004) MTHFR polymorphisms, diet, HRT, and breast cancer risk: the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:2071–2077.

Lee SA, Kang D, Nishio H, Lee MJ, Kim DH, Han W, Yoo KY, Ahn SH, Choe KJ, Hirvonen A, Noh DY (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, diet, and breast cancer in Korean women. *Exp Mol Med* 36:116–121

Lee SS-J (2009) Defining statistical race and phenotypic race and their implications for health disparities. *Curr Pharmacogenomics Person Med* 7:238–242.

Lehman TA, Haffty BG, Carbone CJ, Bishop LR, Gumbs AA, Krishnan S, Shields PG, Modali R, Turner BC (2000) Elevated frequency and functional activity of a specific germ-line p53 intron mutation in familial breast cancer. *Cancer Res* 60:1062–1069.

Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B (1997) DNA methylation and genetic instability in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:2545-2550.

Leon DA, Smith GD (2000) Infant mortality, stomach cancer, stroke, and coronary heart disease: ecological analysis. *BMJ* 320:1705–1706.

Lesser J H (1989) Pawns of the Powerful. Jewish Immigration to Brazil 1904–1945.

Levine A, Cantoni GL, Razin A (1991) Inhibition of promoter activity by methylation: possible involvement of protein mediators. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:6515–6518.

Levine AJ (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88:323–331.

Lewis SJ, Harbord RM, Harris R, Smith GD (2006) Meta-analyses of observational and genetic association studies of folate intakes or levels and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 98(22):1607-1622.

Li SY, Rong M, Iacopetta B (2006) Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in human breast cancer. *Oncol Rep* 15:221–225.

Li WD, Chen SQ (2009) Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer risk. *J Prac Med* 25:2031–2033

Lin WY, Chou YC, Wu MH, Huang HB, Jeng YL, Wu CC, Yu CP, Yu JC, You SL, Chu TY, Chen CJ, Sun CA (2004) The MTHFR C677T polymorphism, estrogen exposure and breast cancer risk: a nested case-control study in Taiwan. *Anticancer Res* 24:3863–3868

Linzer DI, Levine AJ (1979) Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 17:43-52.

Lissowska J, Gaudet MM, Brinton LA, Chanock SJ, Peplonska B, Welch R, Zatonski W, Szeszenia-Dabrowska N, Park S, Sherman M, Garcia-Closas M (2007) Genetic polymorphisms in the one-carbon metabolism pathway and breast cancer risk: a population-based case-control study and meta-analyses. *Int J Cancer* 120(12):2696-2703.

Lorincz MC, Groudine M (2001) C(m)C(a/t)GG methylation: a new epigenetic mark in mammalian DNA? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:10034–10036.

Lozano G, Levine AJ (1991) Tissue-specific expression of p53 in transgenic mice is regulated by intron sequences. *Mol Carcinog* 4:3–9.

Lum SS, Chua HW, Li H, Li WF, Rao N, Wei J, Shao Z, Sabapathy K (2008) MDM2 SNP309 G allele increases risk but the T allele is associated with earlier onset age of sporadic breast cancers in the Chinese population. *Carcinogenesis* 29:754–761.

Ma E, Iwasaki M, Junko I, Hamada GS, Nishimoto IN, Carvalho SM, Motola J Jr, Laginha FM, Tsugane S (2009) Dietary intake of folate, vitamin B6, and vitamin B12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case-control study in Brazilian women. *BMC Cancer* 9:122.

Ma E, Iwasaki M, Kobayashi M, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Tsugane S (2009) Dietary intake of folate, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case control study in Japan. *Nutr Cancer* 61:447–456.

Ma H, Hu Z, Zhai X, Wang S, Wang X, Qin J, Chen W, Jin G, Liu J, Gao J, Wang X, Wei Q, Shen H (2006) Joint effects of single nucleotide polymorphisms in P53BP1 and p53 on breast cancer risk in a Chinese population. *Carcinogenesis* 27:766–771.

Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R (1996) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in U.S. physicians. *Circulation* 94:2410–2416.

Mabrouk I, Baccouche S, El-Abed R, Mokdad-Gargouri R, Mosbah A, Said S, Daoud J, Frikha M, Jlidi R, Gargouri A (2003) No evidence of correlation between p53 codon 72 polymorphism and risk of bladder or breast carcinoma in Tunisian patients. *Ann N Y Acad Sci* 1010:764–770.

Macis D, Maisonneuve P, Johansson H, Bonanni B, Botteri E, Iodice S, Santillo B, Penco S, Gucciardo G, D'Aiuto G, Rosselli Del Turco M, Amadori M, Costa A, Decensi A (2007) Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case–control study and a pooled meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 106:263–271.

Madeleine MM, Shera K, Schwartz SM, Daling JR, Galloway DA, Wipf GC, Carter JJ, McKnight B, McDougall JK (2000) The p53 Arg72Pro polymorphism, human papillomavirus, and invasive squamous cell cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:225–227.

Marin MC, Jost CA, Brooks LA, Irwin MS, O'Nions J, Tidy JA, James N, McGregor JM, Harwood CA, Yulug IG, Vousden KH, Allday MJ, Gusterson B, Ikawa S, Hinds PW, Crook T, Kaelin WG, Jr (2000) A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. *Nat Genet* 25:47–54.

Martin DN, Boersma BJ, Howe TM, Goodman JE, Mechanic LE, Chanock SJ, Ambros S (2006) Association of MTHFR gene polymorphisms with breast cancer survival. *BMC Cancer* 6:257

Maruti SS, Ulrich CM, Jupe ER, White E (2009) MTHFR C677T and postmenopausal breast cancer risk by intakes of one-carbon metabolism nutrients: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* 11:R91.

Marx J, Momand J, Finlay CA (1993) How p53 suppresses cell growth. *Science* 262:1644–1645.

McCabe D, Caudill MA (2005) DNA methylation, genomic silencing, and links to nutrition and cancer. *Nutr Rev* 63:183–195.

McNulty H, Doweck RC, Strain JJ, Dunne A, Ward M, Molloy AM, McArdle LB, Hughes JP, Hannon-Fletcher M, Scott JM (2006) Riboflavin lowers homocysteine in individuals homozygous for the MTHFR 677C->T polymorphism. *Circulation* 113(1):74–80.

Melnyk S, Pogribna M, Miller BJ, Basnakian AG, Pogribny IP, James SJ (1999) Uracil misincorporation, DNA strand breaks, and gene amplification are associated with tumorigenic cell transformation in folate deficient/repleted Chinese hamster ovary cells. *Cancer Lett* 146(1):35–44

Menzel HJ, Sarmanova J, Soucek P, Berberich R, Grünwald K, Haun M, Kraft HG (2004) Association of NQO1 polymorphism with spontaneous breast cancer in two independent populations. *Br J Cancer* 90:1989–1994.

Miller JW, Nadeau MR, Smith J, Smith D, Selhub J (1994) Folate-deficiency-induced homocysteinaemia in rats: disruption of S-adenosylmethionine's co-ordinate regulation of homocysteine metabolism. *Biochem J* 298:415–419.

Modan B, Gak E, Sade-Bruchim RB, Hirsh-Yechezkel G, Theodor L, Lubin F, Ben-Baruch G, Beller U, Fishman A, Dgani R, Menczer J, Papa M, Friedman E (1996) High frequency of BRCA1 185delAG mutation in ovarian cancer in Israel. *JAMA* 276:1823-1825.

Moll UM, Schramm LM (1998) p53 - An acrobat in tumorigenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 9:23-37.

Motulsky AG (1995) Jewish diseases and origins. *Nat Genet* (9):99–101.

Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K (1978) The genetics of Jews. Clarendon Press, Oxford.

Nan X, Ng HH, Johnson CA, Laherty CD, Turner BM, Eisenman RN, Bird A (1998) Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* (London) 393:386–389.

Narayan A, Ji W, Zhang XY, Marrogi A, Graff JR, Baylin SB, Ehrlich M (1998) Hypomethylation of pericentromeric DNA in breast adenocarcinomas. *Int J Cancer* 77:833– 838.

Nelson NJ (1998) Ashkenazi community is not unwilling to participate in genetic research. *J Natl Cancer Inst* 90(12):884-885.

Nicolaiewsky E (1984) Israelitas no Rio Grande do Sul.

Nigro JM, Barker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, Bigner SH, Davidson N, Baylin S, Devilee P, Glover T, Collins FS, Weston A, Modali R, Harris CC, Vogelstein B (1989) Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types, *Nature* 342:705–708.

Noma C, Miyoshi Y, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S (2004) Association of p53 genetic polymorphism (Arg72Pro) with estrogen receptor positive breast cancer risk in Japanese women. *Cancer Lett* 210:197–203.

O'Connor DP, Kay EW, Leader M, Atkins GJ, Murphy GM, Mabruk MJ (2001) p53 codon 72 polymorphism and human papillomavirus associated skin cancer. *J Clin Pathol* 54:539–542.

Ogino S, Wilson RB (2003) Genotype and haplotype distributions of MTHFR677C>T and 1298A>C single nucleotide polymorphisms: a meta-analysis. *J Hum Genet* 48:1–7.

Ohayon T, Gershoni-Baruch R, Papa MZ, Distelman Menachem T, Eisenberg Barzilai S, Friedman E (2005) The R72P P53 mutation is associated with familial breast cancer in Jewish women. *Br J Cancer* 92:1144–1148.

Ohta T (1973) Slightly deleterious mutant substitutions in evolution. *Nature* 246:96–98.

Oka K, Ishikawa J, Bruner JM, Takahashi R, Saya H (1991) Detection of loss of heterozygosity in the p53 gene in renal cell carcinoma and bladder cancer using the polymerase chain reaction. *Mol Carcinog* 4:10–13.

Okada H, Kimura MT, Tan D, Fujiwara K, Igarashi J, Makuuchi M, Hui AM, Tsurumaru M, Nagase H (2005) Frequent trefoil factor 3 (TFF3) overexpression and promoter hypomethylation in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Int J Oncol* 26:369–377.

Olschwang S, Laurentpuig P, Vassal A, Salmon RJ, Thomas G (1991) Characterization of a frequent polymorphism in the coding sequence of the Tp53 gene in colonic cancer patients and a control population. *Hum Genet* 86:369–370.

Ongusaha PP, Ouchi T, Kim KT, Nytko E, Kwak JC, Duda RB, Deng CX, Lee SW (2003) BRCA1 shifts p53-mediated cellular outcomes towards irreversible growth arrest. *Oncogene* 22:3749–3758.

Ore L, Tamir A, Beiran I, Epstein L (1991) Mortality trends among Jewish and non-Jewish women in Israel, 1960-1982. *Isr J Med Sci* 27(1):30-36.

Oren M (2003) Decision making by p53: life, death and cancer. *Cell Death Differ* 10:431-442.

Ostrer H (2001) A genetic profile of contemporary Jewish populations. *Nat Rev Genet* 2:891–898.

Papadakis ED, Soultziz N, Spandidos DA (2002) Association of p53 codon 72 polymorphism with advanced lung cancer: the Arg allele is preferentially retained in tumours arising in Arg/Pro germline heterozygotes. *Br J Cancer* 87:1013–1018.

Papadakis EN, Dokianakis DN, Spandidos DA (2000) p53 codon 72 polymorphism as a risk factor in the development of breast cancer. *Mol Cell Biol Res Commun* 3:389–392.

Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J (1997) Cancer incidence in five continents. IARC Scientific Publications n 143. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.

Paz MF, Avila S, Fraga MF, Pollan M, Capella G, Peinado MA, Sanchez-Cespedes M, Herman JG, Esteller M (2002) Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Cancer Res* 62:4519–4524.

Peixoto Guimaraes D, Hsin Lu S, Snijders P, Wilmotte R, Herrero R, Lenoir G, Montesano R, Meijer CJ, Walboomers J, Hainaut P (2001) Absence of association between HPV DNA, TP53 codon 72 polymorphism and risk of oesophageal cancer in a high-risk area of China. *Cancer Lett* 162:231–235.

Peltonen L, Palotie A, Lange K (2000) Use of population isolates for mapping complex traits. *Nat Rev Genet* 1:182–190.

Pfeffer RS (1993) A comunidade judaica de Belo Horizonte: formação de uma identidade étnica particular numa sociedade diferenciada e plural [dissertação]. Belo Horizonte: Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Minas Gerais.

Pierce LM, Sivaraman L, Chang W, Lum A, Donlon T, Seifried A, Wilkens LR, Lau AF, Le Marchand L (2000) Relationships of TP53 codon 72 and HRAS1 polymorphisms with lung cancer risk in an ethnically diverse population. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 9:1199–1204.

Pietsch EC, Humbey O, Murphy ME (2006) Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 25:1602-1611.

Pim D, Banks L (2004) p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. *Int J Cancer* 108:196–199.

Platek ME, Shields PG, Marian C, McCann SE, Bonner MR, Nie J, Ambrosone CB, Millen AE, Ochs-Balcom HM, Quick SK, Trevisan M, Russell M, Nochajski TH, Edge SB, Freudenheim JL (2009) Alcohol consumption and genetic variation in methylenetetrahydrofolate reductase and 5-methyltetrahydrofolate homocysteine methyltransferase in relation to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18:2453–2459.

Ponder BA (2001) Cancer genetics. *Nature*, 411, 336–341.

Potter JD (1999) Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 91:916-932.

Qi J, Miao XP, Tan W, Yu CY, Liang G, Lü WF, Lin DX (2004) Association between genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and risk of breast cancer. *Chin J Oncol* 26:287–289.

Qi X, Ma X, Yang X, Fan L, Zhang Y, Zhang F, Chen L, Zhou Y, Jiang J (2010) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and breast cancer risk: a meta-

analysis from 41 studies with 16,480 cases and 22,388 controls. *Breast Cancer Res Treat* 123(2):499-506.

Qu G, Dubeau L, Narayan A, Yu M, Ehrlich M (1999a) Satellite DNA hypomethylation vs. overall genomic hypomethylation in ovarian epithelial tumors of different malignant potential. *Mut Res* 423:91–101.

Qu G, Ehrlich M (1999) Demethylation and expression of methylated plasmid DNA stably transfected into HeLa cells. *Nucleic Acids Res* 27:2332–2338.

Rajkumar T, Samson M, Rama R, Sridevi V, Mahji U, Swaminathan R, Nancy N (2008) TGFb1 (Leu10Pro), p53 (Arg72Pro) can predict for increased risk for breast cancer in south Indian women and TGFb1 Pro (Leu10Pro) allele predicts response to neo-adjuvant chemo-radiotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 112:81–87.

Rampersaud GC, Kauwell GP, Hutson AD, Cerda JJ, Bailey LB (2000) Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr* 72:998–1003.

Raycroft L, Wu H, Lozano G (1990) Transcriptional activation by wild-type but not transforming mutants of the p53 anti-oncogene. *Science* 249:1049–1051.

Reljic A, Simundic AM, Topic E, Nikolac N, Justinic D, Stefanovic M (2007) The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and cancer risk: the Croatian case-control study. *Clin Biochem* 40:981–985.
research. *J Natl Cancer Inst* 90(12):884-885.

Rezza G, Giuliani M, Garbuglia AR, Serraino D, Cappiello G, Migliore G, Branca M, Benedetto A, Ippolito G (2001) Lack of association between p53 Codon-72 polymorphism and squamous intraepithelial lesions in women with, or at risk for, human immunodeficiency virus and/or human papillomavirus infections. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:565–566.

Risch N (2001) Molecular epidemiology of Tay-Sachs disease. *Adv Genet* 44:233–252

Risch N, Burchard E, Ziv E, Tang H (2002) Categorization of humans in biomedical research: genes, race and disease [comment]. *Genome Biol* 3(7).

Risch N, de Leon D, Fahn S, Bressman S, Ozelius L, Breakefield X, Kramer P, Almasy L, Singer B (1995a) ITD in Ashkenazi Jews—genetic drift or selection?: in reply. *Nat Genet* 11:14–15.

Risch N, de Leon D, Ozelius L, Kramer P, Almasy L, Singer B, Fahn S, Breakefield X, Bressman S (1995) Genetic analysis of idiopathic torsion dystonia in Ashkenazi Jews and their recent descent from a small founder population. *Nat Genet* 9:152–159.

Risch N, Tang H, Katzenstein H, Ekstein J (2003) Geographic distribution of disease mutations in the Ashkenazi Jewish population supports genetic drift over selection. *Am J Hum Genet* 72(4):812-22.

Robertson KD, Wolffe AP (2000) DNA methylation in health and disease. *Nat Rev Genet* 1:11–19.

Rocha JCC, Silva SN (2003) Oncogenética. In: Coelho FRG, Kowalski LP. Bases da Oncologia. 2ª ed. São Paulo: TECMEDD p 423-432.

Rodriguez CE (1990) Racial Classification among Puerto Rican men and women in New York. *Hisp J Behav Sci* 12:366–379.

Roh JW, Kim JW, Park NH, Song YS, Park IA, Park SY, Kang SB, Lee HP (2004) p53 and p21 genetic polymorphisms and susceptibility to endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 93:499–505.

Rosenthal AN, Ryan A, Hopster D, Suretheran T, Jacobs IJ (2001) High frequency of loss of heterozygosity in vulval intraepithelial neoplasia (VIN) is associated with invasive vulval squamous cell carcinoma (VSCC). *Int J Cancer* 94:896–900.

Roy B, Beaman J, Balint E, Reisman D (1994) Transactivation of the human p53 tumor suppressor gene by c-myc/max contributes to elevated mutant p53 expression in some tumors. *Mol Cell Biol* 14:7805–7815.

Rozen R (2004) Folate and genetics. *J Food Sc* 69:SNQ65–67.

Ruppin A (1934) *The Jews in the Modern World*. London: Macmillan, p. 88-94.

Ryan-Harshman M, Aldoori W (2007) Diet and colorectal cancer: review of the evidence. *Can Fam Physician* 53:1913–1920.

Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, Roddam AW, Key TJ (2005) Folic acid intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. *Int J Cancer* 113:825–828.

Santini V, Kantarjian HM, Issa JP (2001) Changes in DNA methylation in neoplasia: pathophysiology and therapeutic implications. *Ann Intern Med* 134:573–586.

Santos AM, Sousa H, Catarino R, Pinto D, Pereira D, Vasconcelos A, Matos A, Lopes C, Medeiros R (2005) TP53 codon 72 polymorphism and risk for cervical cancer in Portugal. *Cancer Genet Cytogenet* 159:143–147.

Santourlidis S, Florl A, Ackermann R, Wirtz HC, Schulz WA (1999) High frequency of alterations in DNA methylation in adenocarcinoma of the prostate. *Prostate* 39:166–174.

Schmelz UO (1981) *Jewish Survival: The Demographic Factors*. American Jewish Year Book.

Schmidt MK, Reincke S, Broeks A, Braaf LM, Hogervorst FB, Tollenaar RA, Johnson N, Fletcher O, Peto J, Tommiska J, Blomqvist C, Nevanlinna HA, Healey CS, Dunning AM, Pharoah PD, Easton DF, Dork T, Van't Veer LJ, Breast Cancer

Association Consortium (2007) Do MDM2 SNP309 and TP53 R72P interact in breast cancer susceptibility? a large pooled series from the breast cancer association consortium. *Cancer Res* 67:9584–9590.

Schwartz RS (2001) Racial profiling in medical research. *N Engl J Med* 344:1392–1393.

Semenza JC, Delfino RJ, Ziogas A, Anton-Culver H (2003) Breast cancer risk and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism. *Breast Cancer Res Treat* 77:217–223

Sharp L, Little J (2004) Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 159:423–443.

Sharp L, Little J, Schofield AC, Pavlidou E, Cotton SC, Miedzybrodzka Z, Baird JO, Haites NE, Heys SD, Grubb DA (2002) Folate and breast cancer: the role of polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Cancer Lett* 181:65–71

Sharpless NE, DePinho RA (2002) p53: good cop/bad cop. *Cell* 110:9-12.

Shi Q, Zhang Z, Li G, Pillow PC, Hernandez LM, Spitz MR, Wei Q (2005) Sex differences in risk of lung cancer associated with methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:1477–1484.

Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, Shu XO, Dai Q, Hébert JR, Jin F, Zheng W (2004) MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:190–196.

Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, Shu XO, Dai Q, Hébert JR, Jin F, Zheng W (2004) MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: Results from the Shanghai breast cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:190–196.

Siddique MM, Balram C, Fiszler-Maliszewska L, Aggarwal A, Tan A, Tan P, Soo KC, Sabapathy K (2005) Evidence for selective expression of the p53 codon 72 polymorphisms: implications in cancer development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:2245–2252.

Singh V, Rastogi N, Mathur N, Singh K, Singh MP (2008) Association of polymorphism in MDM-2 and p53 genes with breast cancer risk in Indian women. *Ann Epidemiol* 18:48–57.

Själänder A, Birgander R, Hallmans G, Cajander S, Lenner P, Athlin L, Beckman G, Beckman L (1996b) p53 polymorphisms and haplotypes in breast cancer. *Carcinogenesis* (Lond.), 17: 1313–1316.

Själänder A, Birgander R, Saha N, Beckman L, Beckman G (1996a) p53 polymorphisms and haplotypes show distinct differences between major ethnic groups. *Hum Hered* 46:41–48.

Sjöblom T, Jones S, Wood LD, Parsons DW, Lin J, Barber TD, Mandelker D, Leary RJ, Ptak J, Silliman N, Szabo S, Buckhaults P, Farrell C, Meeh P, Markowitz SD, Willis J, Dawson D, Willson JK, Gazdar AF, Hartigan J, Wu L, Liu C, Parmigiani G, Park BH, Bachman KE, Papadopoulos N, Vogelstein B, Kinzler KW, Velculescu VE (2006) The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 314:268–274.

Slatkin M (2004) A Population-Genetic Test of Founder Effects and Implications for Ashkenazi Jewish Diseases. *Am J Hum Genet* 75:282–293.

Sohn KJ, Croxford R, Yates Z, Lucock M, Kim YI (2004) Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism on chemosensitivity of colon and breast cancer cells to 5-fluorouracil and methotrexate. *J Natl Cancer Inst* 96:134-144.

Soulitzis N, Sourvinos G, Dokianakis DN, Spandidos DA (2002) p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer. *Cancer Lett* 179:175–183.

Soussi T (1996) The p53 tumour suppressor gene: a model for molecular epidemiology of human cancer . *Mol Med Today* 2:32–37.

Soussi T (2000) The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci* 910:121–137 discussion 137–139.

Sprague BL, Trentham-Dietz A, Garcia-Closas M, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Hampton JM, Chanock SJ, Haines JL, Egan KM (2007) Genetic variation in TP53 and risk of breast cancer in a population-based case–control study. *Carcinogenesis* 28:1680–1686.

Stempak JM, Sohn KJ, Chiang EP, Shane B, Kim YI (2005) Cell and stage of transformation-specific effects of folate deficiency on methionine cycle intermediates and DNA methylation in an *in vitro* model. *Carcinogenesis* 26:981–990.

Stern LL, Mason JB, Selhub J, Choi SW (2000) Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:849–853.

Stevens VL, McCullough ML, Pavluck AL, Talbot JT, Feigelson HS, Thun MJ, Calle EE (2007) Association of polymorphisms in one-carbon metabolism genes and postmenopausal breast cancer incidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:1140–1147.

Storey A, Massimi P, Dawson K, Banks L (1995) Conditional immortalization of primary cells by human papillomavirus type 18 E6 and EJ-ras defines an E6 activity in G0/G1 phase which can be substituted for mutations in p53. *Oncogene* 11:653–661.

Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L (1998) Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 393:229–234.

Struewing JP, Abeliovich D, Peretz T, Avishai N, Kaback MM, Collins FS, Brody LC (1995) The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals. *Nat Genet* 11:198-200.

Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA (1997) The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 336(20):1401-8.

Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Sun L, Sun YH, Wang B, Cao HY, Yu C (2008) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and susceptibility to gastric cancer in Chinese populations: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 17:446–452.

Suspitsin EN, Buslov KG, Grigoriev MY, Ishutkina JG, Ulibina JM, Gorodinskaya VM, Pozhariscki KM, Berstein LM, Hanson KP, Togo AV, Imyanitov EN (2003) Evidence against involvement of P53 polymorphism in breast cancer predisposition. *Int J Cancer* 103:431–433.

Suzuki T, Matsuo K, Hirose K, Hiraki A, Kawase T, Watanabe M, Yamashita T, Iwata H, Tajima K (2008) One-carbon metabolism-related gene polymorphisms and risk of breast cancer. *Carcinogenesis* 2:356–362.

Tenti P, Vesentini N, Rondo Spauldo M, Zappatore R, Migliora P, Carnevali L, Ranzani GN (2000) p53 codon 72 polymorphism does not affect the risk of cervical cancer in patients from Northern Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:435–438.

Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L, Matlashewski G (1999) Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *Mol Cell Biol* 19:1092–1100.

Thompson EA, Neel JV (1996) Private polymorphisms: how many? how old? how useful for genetic taxonomies? *Mol Phylogenet Evol* 5:220–231.

Tommiska J, Eerola H, Heinonen M, Salonen L, Kaare M, Tallila J, Ristimäki A, von Smitten K, Aittomäki K, Heikkilä P, Blomqvist C, Nevanlinna H (2005) Breast cancer patients with p53 Pro72 homozygous genotype have a poorer survival. *Clin Cancer Res* 11:5098–5103.

Ueda M, Terai Y, Kanda K, Kanemura M, Takehara M, Yamaguchi H, Nishiyama K, Yasuda M, Ueki M (2006) Germline polymorphism of p53 codon 72 in gynecological cancer. *Gynecol Oncol* 100:173–178.

Ulrich CM, Curtin K, Samowitz W, Bigler J, Potter JD, Caan B, Slattery ML (2005) MTHFR Variants Reduce the Risk of G:C->A:T Transition Mutations within the p53 Tumor Suppressor Gene in Colon Tumors. *J Nutr* 135:2462–2467.

Ulvik A, Ueland PM, Fredriksen A, Meyer K, Vollset SE, Hoff G, Schneede J (2007) Functional inference of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T and 1298A>C polymorphisms from a large-scale epidemiological study. *Hum Genet* 121:57–64.

Vafa O, Wade M, Kern S, Beeche M, Pandita TK, Hampton GM, Wahl GM (2002) c-Myc can induce DNA damage, increase reactive oxygen species, and mitigate p53 function: a mechanism for oncogene-induced genetic instability. *Mol Cell* 9:1031-1044.

van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP, Blom HJ (1998) A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 62:1044–1051.

Varmus H (2006) The new era in cancer research. *Science* 312:1162–1165.

Via M, Ziv E, Burchard EG (2009) Recent advances of genetic ancestry testing in biomedical research and direct to consumer testing. *Clin Genet* 76:225–235.

Vogel F, Motulsky AG (1996) Human genetics: problems and approaches. Springer-Verlag, New York.

Vogelstein B, Kinzler KW (1992) p53 function and dysfunction. *Cell* 70:523–526.

Vogelstein B, Kinzler KW (1998) (eds). The Genetic Basis of Human Cancer. New York: McGraw-Hill.

Vogelstein B, Lane D, Levine AJ (2000) Surfing the p53 network. *Nature* 408:307-310

Vollset SE, Igland J, Jenab M, Fredriksen A, Meyer K, Eussen S, Gjessing HK, Ueland PM, Pera G, Sala N, Agudo A, Capella G, Del Giudice G, Palli D, Boeing H, Weikert C, Bueno-de-Mesquita HB, Carneiro F, Pala V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Berglund G, Manjer J, Stenling R, Hallmans G, Martínez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quirós JR, Allen N, Key TJ, Bingham S, Linseisen J, Kaaks R, Overvad K, Tjønneland A, Büchner FL, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Lund E, Slimani N, Ferrari P, Riboli E, González CA (2007) The association of gastric cancer risk with plasma folate, cobalamin, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:2416–2424.

Vousden KH (2000) p53: Death star. *Cell* 103:691-694.

Vousden KH, Lane DP (2007) p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:275–283

Wacholder S, McLaughlin JK, Silverman DT, Mandel JS (1992) Selection of controls in case-control studies. I. Principles. *Am J Epidemiol* 135:1019–1028.

Wainberg JA (2004) (ed.), 100 Anos de Amor. A imigração judaica no Rio Grande do Sul.

Wainfan E, Poirier LA (1992) Methyl groups in carcinogenesis: effects on DNA methylation and gene expression. *Cancer Res* 52:2071s–7.

Walker KK, Levine AJ (1996) Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:15335-15340.

Wang-Gohrke S, Becher H, Kreienberg R, Runnebaum IB, Chang-Claude J (2002) Intron 3 16 bp duplication polymorphism of p53 is associated with an increased risk for breast cancer by the age of 50 years. *Pharmacogenetics* 12:269–272.

Wei Q, Shen H, Wang LE, Duphorne CM, Pillow PC, Guo Z, Qiao Y, Spitz MR (2003) Association between low dietary folate intake and suboptimal cellular DNA repair capacity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12:963–969.

Weinberg RA (2008) A biologia do câncer cap: 7. Artmed editora, 1^a ed, Brasil, 864p.

Weinryb BD (1972) The Jews of Poland: a social and economic history of the Jewish community in Poland from 1100 to 1800. Jewish Publication Society of America, Philadelphia.

Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Curtis Ellison R, Eckfeldt JH, Rozen R (2001) The 1298A->C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis* 156:409 – 415.

Weston A, Godbold JH (1997) Polymorphisms of H-ras-1 and p53 in breast cancer and lung cancer: a meta-analysis. *Environ Health Perspect* 105:919 –926.

Weston A, Pan CF, Ksieski HB, Wallenstein S, Berkowitz GS, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Brower ST, Senie RT, Wolff MS (1997) p53 haplotype determination in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:105–112.

Wolffe AP, Matzke MA (1999) Epigenetics: regulation through repression. *Science* 286:481–486.

Wu X, Zhao H, Amos CI, Shete S, Maman N, Hong WK, Kadlubar FF, Spitz MR (2002) p53 Genotypes and haplotypes associated with lung cancer susceptibility and ethnicity. *J Natl Canc Inst* 94:681–690.

Xu X, Gammon MD, Zhang H, Wetmur JG, Rao M, Teitelbaum SL, Britton JA, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2007) Polymorphisms of one-carbon-metabolizing genes and risk of breast cancer in a population-based study. *Carcinogenesis* 28:1504–1509.

Yeager M, Orr N, Hayes RB, Jacobs KB, Kraft P, Wacholder S, Minichiello MJ, Fearnhead P, Yu K, Chatterjee N, Wang Z, Welch R, Staats BJ, Calle EE, Feigelson HS, Thun MJ, Rodriguez C, Albanes D, Virtamo J, Weinstein S, Schumacher FR, Giovannucci E, Willett WC, Cancel-Tassin G, Cussenot O, Valeri A, Andriole GL, Gelmann EP, Tucker M, Gerhard DS, Fraumeni JF Jr, Hoover R, Hunter DJ, Chanock SJ, Thomas G (2007) Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet* 39:645–649.

Yu CP, Wu MH, Chou YC, Yang T, You SL, Chen CJ, Sun CA (2007) Breast cancer risk associated with multigenotypic polymorphisms in folate-metabolizing genes: a nested case-control study in Taiwan. *Anticancer Res* 27:1727–1732

Yu K, Wang Z, Li Q, Wacholder S, Hunter DJ, Hoover RN, Chanock S, Thomas G (2008) Population Substructure and Control Selection in Genome-Wide Association Studies. *PLoS ONE* 3(7):e2551.

Yuan H, Xu XY, Wang ZL (2009) The relation between polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and the risk of breast cancer. *J MuDanJiang Med Univ* 30:2–4

Zago MA, Costa FF (1985) Hereditary hemoglobin disorders in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79:385-388.

Zago MA, Silva WA Jr, Tavella MH, Santos SEB, Guerreiro JF, Figueiredo MS (1996) Interpopulation and intrapopulation genetic diversity of amerindians as revealed by six variable number of tandem repeats. *Hum Hered* 46:274-289.

Zintzaras E (2006) Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. *J Hum Genet* 51:618–624.

6. MANUSCRITO 1 – VERSÃO PRELIMINAR

(será submetido ao periódico *Molecular Cancer Research*)

PREVALENCE OF R72P POLYMORPHISM IN TP53 GENE AND C677T/A1298C
MUTATION IN METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) GENE
AND CANCER RISK IN ASHKENAZI JEWISH WOMEN OF PORTO ALEGRE

Isabel Cristina Bandeira^{1,2}, Raquel Santos de Almeida¹, Taiana Valente Tubino¹,
Juliana Allenbrand Becker¹, Rafael Rebelo e Silva¹, Eleonora Souza Dias³, Sandra
Leistner-Segal^{1,2}

1- Molecular Genetics Laboratory, Medical Genetics Service – Hospital de Clínicas
de Porto Alegre (HCPA)

2- Post Graduation Programme in Medicine: Medical Sciences – Universidade Federal
do Rio Grande do Sul (UFRGS)

2- Hospital Materno Infantil Presidente Vargas

Corresponding author:

Dr Sandra Leistner-Segal

Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP 90035-903

Porto Alegre, RS, Brazil

E-mail: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Phone number: 51-33598011

Fax: 51-33598010

ABSTRACT

The *TP53* gene plays an important role in several cellular processes. The Arg72Pro polymorphism (R72P) of the *TP53* gene leads to functional differences in biological and biochemical activities, which seems to be closely associated with breast cancer. It is believed that the genetic variation in methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*), which is an essential enzyme in carbon metabolism, may alter the DNA methylation levels and influence carcinogenesis. Susceptibility to cancer can be observed at different frequencies, in different populations. One of the many populations studied is the Ashkenazi Jewish, which has been the subject of many studies, since genetic diseases are perceived in greater proportion than that expected for any other population. This incidence probably results from the fact that this population has suffered two major bottlenecks throughout its history, thus causing a founder effect that would be responsible for the high rate of genetic diseases. Thus, it was sought to determine the prevalence of polymorphisms R72P (*TP53*) and A1298C and C677T (*MTHFR*) in Ashkenazi Jewish women from Porto Alegre. To this end, 255 women, residents of the city of Porto Alegre had their regions of interest amplified. R72P polymorphism in Ashkenazi women showed a genotype frequency of ~61% Arg/Arg, ~37% Arg/Pro and ~2% Pro/Pro, when compared with the control sample, which genotype frequency was ~43% Arg/Arg, ~44% Arg/Pro and 13% Pro/Pro. With regard to *MTHFR* polymorphisms, the following results were achieved for Jewish women and controls: 677CC (31 and 42%), 677CT (47 and 48%), 677TT (22 and 10%), 1298AA (49.4 and 60%), 1298AC (43.1 and 35%) and 1298CC (7.5 and 5%). The statistical results were significant for allelic and genotypic frequencies ($P < 0.001$ for R72P; $P = 0.000$ for C677T and A1298C for $P = 0.041$). In order to consistently evaluate the influence of ethnic and racial differences that may affect the results of studies, it is important that the samples are amplified and diversified; aspects such as diet, smoking, drinking, consanguineous marriages, among others, should be also considered in the analysis of data, so that better answers are found to the questions raised by hypothesis, hence eliminating possible confounding factors.

Keywords: *TP53*, *MTHFR*, breast cancer, Ashkenazi Jewish

INTRODUCTION

Over the past decades, the identification of genetic susceptibility factors for cancer has been widely studied. Facilitated by a continuous technological advancement that allows genotyping results faster and at moderate cost, a growing number of studies investigating the association between variants in candidate genes and cancer risks have emerged (1).

Estimates of the National Cancer Institute (INCa) for 2010/2011 indicate the occurrence of 489,270 new cases of cancer in the general population (253,030 cases were identified in the female population). It is believed that the main types of cancer that affect women will be breast cancer (49,240) and cervical cancer (18,430) (2). According to the International Agency for Research on Cancer (IARC), breast cancer is more common among women, and approximately 1.38 million new cases were diagnosed in 2008 (23% of all cancer types) and ranks second overall (10.9%). The incidence ranges from 19.3 cases per 100,000 women in East Africa to 89.7 cases per 100,000 women in Western Europe and is also high (over 80 per 100,000) in more developed countries (except Japan) and low (less than 40 per 100,000) in most developing countries (3).

Initially described as an oncogene, *TP53* was the first tumor suppressor to be identified. Its structure and expression have been widely studied in various cancer types (4). Evidences suggest that abnormalities in this gene are often associated with the pathogenicity of neoplasias such as breast cancer, lung cancer and colon cancer (5). Among the genetic susceptibility factors in familial and/or sporadic breast cancer, this is a strong candidate gene. Occurrence of mutations, with or without loss of heterozygosity (LOH) has been identified in cell lines and primary breast cancer, thus causing the *TP53* gene to suppress breast tumor cells (6, 7). Loss of heterozygosity in this gene was observed to be a common event in primary breast carcinomas (8).

Referred to as a “genome guardian”, the *TP53* gene is essential for preserving genome integrity (6, 9). The role of this gene in a variety of cellular processes such as transcription, DNA repair, cell cycle control and apoptosis makes it a potential marker to detect patients at high risk of developing cancer. This gene is located on chromosome 17p13 and is one of the most frequently altered genes in tumors (10, 11, 12).

Several polymorphisms have been identified in the *TP53* gene, within coding and noncoding regions (13). One of the most studied polymorphisms is the Arg72Pro (R72P); located at codon 72, in exon 4, it leads to the replacement of arginine by proline and results in structural alteration of the p53 protein (14). This polymorphism results in two isoforms encoding both proline (CCC) and arginine (CGC), which imply functional differences in biological and biochemical activities (15).

Many genes are involved in hereditary susceptibility to breast cancer and/or ovarian cancer. With regards to high-risk families, the most important genes are *BRCA1* (associated with high penetrance of breast cancer and ovarian cancer) and *BRCA2* (responsible for high risk of developing breast cancer, but low risk for ovarian cancer). Cancer-predisposing mutations in these genes are relatively rare in the population (16).

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is an essential enzyme in folate metabolism, and despite its association with cancer cases is not consistent in several studies, it is supported by several meta-analysis (17-21). Folate deficiency can lead to many changes in metabolic processes and consequently instability of DNA (22), reduction in DNA repair capacity, in case of damages caused by oxidation or alkylation (23) and promotion of DNA hypomethylation (24); all these factors may be involved in carcinogenesis (25, 26). Folate is present in fruits and vegetables, but studies show that individuals who scarcely consume these types of food may present increased risks of gastric cancer (27-29). In many studies, the 677TT variant has been associated with increased risks of gastric cancer (18-21).

The occurrence of aberrant methylation in the promoter site of certain genes is recognized as an important feature of carcinogenesis. There is a scientific hypothesis that the genetic variation in two essential enzymes in one-carbon metabolism - methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase (MTR) - may alter the DNA methylation levels and influence cancer development (30). Breast cancer is a manifestation of genetic and epigenetic changes. The interruption of one-carbon metabolism can be important in the etiology of this type of cancer, since it facilitates the communication between these genetic and epigenetic processes, which in turn play critical roles in both methylation and synthesis of DNA (31).

The gene encoding the enzyme 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase is located on chromosome 1 (1q36.3 region) and has 11 exons (32). Two common functional polymorphisms are known in the *MTHFR* gene. The first to be identified

was the C677T polymorphism; located in exon 4, it involves the replacement of cytosine by thymine, therefore resulting in the substitution of alanine (GCC) by valine (GTC) at codon 222. The second polymorphism identified in *MTHFR* was the A1298C, located in exon 7, where the substitution of adenine (A) by cytosine (C) occurs and a glutamate codon will be at the codon position 429. The two common nonsynonymous variants C677T (Ala222Val) and A1298C (Glu429Ala) have been described for the *MTHFR* gene and associated with a reduced enzyme activity and a change in the intracellular distribution of folate. A change in the reduced folate reserves deriving from changes in the activity of *MTHFR* may have a significant effect on the response of malignant and nonmalignant cells to fluoropyrimidines and antifolates, whose activities depend on the cellular composition of folate (33). Individuals with the 677TT genotype (homozygous variant) show up to about 30% normal enzyme activity and 65% normal activity of heterozygotes (CT) (34). As for the *MTHFR* A1298C polymorphism, the enzyme activity in the 1298CC genotype (homozygous variant) is 40% lower than that in the 1298AA genotype (35, 36).

The Ashkenazi Jewish population is prone to a number of genetic diseases such as cancer, blood diseases, biochemical disorders, among others, possibly due to a founder effect that has occurred in the last two millennia (37, 38). Despite uncertainties underlying the demographic data of Ashkenazi Jews and their ancestors, the available genetic data indicate a founder effect resulting from a bottleneck that has considerably changed the population size between 1100 and 1400 AC, and another prior bottleneck in 75 AC, at the beginning of the Jewish Diaspora (39). Although the disease-associated alleles are likely to be non-neutral, the founder effect allows that even slightly deleterious alleles increase in frequency. Both the founder effect and the heterozygote advantage have been said to be responsible for many alleles associated with diseases affecting the Ashkenazi Jewish population (40).

The purpose of this study is to estimate the prevalence of the polymorphisms R72P (*TP53*), C677T and A1298C (*MTHFR*) in a sample of the Ashkenazi Jewish population from Porto Alegre, Brazil. From the results, the objective is to statistically evaluate a possible involvement of these polymorphisms with the personal and/or familial history of cancer, as reported by the study participants.

MATERIAL AND METHODS

Samples

Control group

The control group consists of 255 healthy women donors from the Blood Bank of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). DNA was extracted from peripheral blood, using the salt-precipitation protocol described by Miller et al. (1998) (41). The samples were stored in a freezer at -20°C.

Case Group

The biological material used for this group is part of a DNA bank extracted prior to this study, and consists of 331 samples whose participants are Ashkenazi Jewish women from the city of Porto Alegre, Brazil. Yet, some participants were excluded from the study for they were of non-Ashkenazi origin (Sephardi or adoptive) or due to degradation of DNA samples. A total of 255 Jewish women have been analyzed after exclusions. These women were invited to participate in this study in a festivity of Jewish community, where they answered the epidemiological questionnaire and biological material was collected for DNA extraction. All participants signed an informed consent.

Amplification of genetic material

The region of interest within the TP53 gene (exon 4) was amplified using the polymerase chain reaction method (PCR). For the preparation of PCR, 0.2 mM dNTP (ABgene), buffer (PHT) 1X, DNA between 50 and 200 ng/μL, 1U Taq polymerase PHT, 1.5 mM MgCl₂ (PHT) and specific primers have been used for the amplification of the fragment (20 pm each), for a final volume of 50 μL in every reaction. The PCR primers used have been described by Leistner-Segal et al. (2006) (42).

The PCR conditions started with denaturation at 94°C, for 3 minutes, followed by 35 cycles of 40 seconds at 94°C, annealing temperature of 51°C, for 30 seconds, and extension at 72°C, for 1 minute; after cyclical repetitions, final the extension was conducted at 72°C, for 10 minutes. The amplified fragment of 350 bp was visualized by electrophoresis on 1.0% agarose gel stained with ethidium bromide.

In order to identify the R72P polymorphism of exon 4, cleavage of the PCR product was conducted with 0.5 μ L of the restriction enzyme *Bst*UI (New England Biolabs, ME), 3 μ L of buffer and 10 μ L of PCR product for a final volume of 30 μ L. Incubation of tubes was made in water bath at 60°C, for 3 hours, enough time to allow complete digestion. The result of the reaction was visualized by electrophoresis on 3% agarose gel stained with ethidium bromide.

The CG↓CG site is recognized by the *Bst*UI restriction enzyme, which cleaves the 350 bp fragment to two other fragments (191 bp and 159 bp), in the presence of CGC (arginine allele). The allele CCG (proline) lacks the restriction site and is not therefore cleaved, remaining with 350 bp.

The regions of interest of *MTHFR* gene were also amplified using the polymerase chain reaction method (PCR). In the preparation of PCR for identification of C677T polymorphism, Supertherm Buffer (10x), ABgene dNTP (2mM), Supertherm MgCl₂, DMSO, primers (20pmol/ μ L) described by Frosst et al., 1995, Supertherm Taq polymerase and genomic DNA have been used. The amplified fragment had 198bp and was examined in 1% agarose gel stained with ethidium bromide. The PCR product was cleaved using the enzyme *Hinf*I (New England) and incubating the samples at 37°C overnight. The C677T polymorphism produces a restriction site for this enzyme, forming fragments of 198 bp + 175 bp + 23 bp for the CT genotype (heterozygous), 198 bp for CC homozygotes and 175 bp for TT homozygotes visualized in 3% agarose gel.

Supertherm Buffer (10x), ABgene dNTP (2mM), MgCl₂ Supertherm, DMSO, primers (20pmol/ μ L) described by Frosst et al., 1998, Supertherm Taq polymerase and DNA have been used for the preparation of PCR reaction for analysis of A1298C polymorphism. The amplified fragment has 163pb and was visualized on 1% agarose gel. The PCR product was cleaved using the enzyme *Mbol*I (New England), and the samples were incubated at 37°C overnight. The A1298C polymorphism abolishes a restriction site for this enzyme, resulting in five fragments (56, 31, 30, 28 and 18pb) for the 1298AA genotype, five fragments (84, 56, 31, 30, 28pb) for genotype 1298AC and 4 fragments (84, 31, 30, 18pb) for the 1298CC genotype. The fragments were visualized on 3.5% agarose gel stained with ethidium bromide.

Statistical analysis of data

The results obtained in the case and control groups have been compared. Using the SPSS v. 14 and the WinPepi v. 4 softwares, the allele and the genotype frequencies of the sample were calculated along with the analysis of significance. The level of statistical significance to be considered is $P < 0.05$. In order to verify whether the sample was in Hardy-Weinberg equilibrium, the following website has been used: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

RESULTS

Ashkenazi Jewish women in the referred sample were aged between 19 and 61 at the time of collection. Most of them were of Ashkenazi origin on both parental sides and only 15 were of that origin on a single parental side. Among these women, 13% (N=33) had personal history of benign breast diseases (solid nodules, breast cysts, mastitis, mastopathy and dysplasia). The majority of that population (73%; N=187) showed family history of cancer in 1st, 2nd, and/or 3rd degree relatives; all kinds of cancer (breast, lung, gastrointestinal tract and skin) have been reported. Until this moment, 23% (N=58) of women in the sample group have not shown a personal/family history of cancer.

The genotype distributions of *TP53* and *MTHFR* polymorphisms in Ashkenazi Jewish women and in the control population and the intra/intergroup analysis are shown in table 1. Table 2 shows allele frequencies for both groups and markers. Table 3 presents the odds ratios for the polymorphisms studied and their respective confidence intervals (CI 95%)

In relation to the R72P polymorphism of *TP53*, P values for both alleles ($P < 0.001$) and genotypes ($P < 0.001$) indicate that, when comparing the control group and the Ashkenazi Jewish women, there have been significant differences in the frequencies. The Ashkenazi Jewish population sample observed in this study is not in Hardy-Weinberg equilibrium, since there are deviations between the expected frequencies and the observed frequencies.

It has been observed in this population that five women had the Proline allele in homozygosis (OR=0.135; 95% CI = 0.04 - 0.36, $P < 0.001$), this OR value possibly indicates a protective factor. None of the four women had cancer so far and only one of them had breast cysts, but without signs of neoplasia. One of them have developed skin cancer and had a 1st degree cousin who developed breast cancer.

In relation to the C677T polymorphism of *MTHFR*, *P* value was 0.000 for both alleles and genotypes. As for the A1298C polymorphism of the referred gene, *P* value was inferior to 0.041 for genotypes and inferior to 0.018 for alleles. When comparing the control group and the Ashkenazi Jewish women, these results indicate that there are significant differences in the frequencies. The odds ratios for the polymorphisms were 2.4 (C677T) and 1.4 (A1298C). The values presented in Table 3 show that the 677TT genotype is associated with increased risks of cancer; that is not the case of 1298CC genotype, whose values are not significant. Regarding these polymorphisms, the sample is in Hardy-Weinberg equilibrium, since there is no deviation between the expected and the observed frequencies.

Previous studies have assessed data such as race and folate intake, considering these factors as essential in the analysis of the relationship of these polymorphisms with several types of consequences as susceptibility to various cancers, defects in the neural tube, lip/cleft palate, among others. Participants have only reported about cancer; in fact, 33 had a history of benign breast disease, 3 had breast cancer and 12 reported to have had other cancer types (kidney, colon, melanoma, ovarian, among others). As previously reported, the family history of cancer among the participants was fairly representative.

An additional analysis of the sample was performed and the participants who reported personal history of cancer (N=15) were excluded while the remaining (N=240) participants were compared with the control group. The results remained fairly significant in relation to R72P (*TP53*) and C677T (*MTHFR*) polymorphisms, but regarding the A1298C polymorphism, the *P* value was not significant in the latter analysis (Table 1).

Inter and intragroup analysis was also performed (table 1). Comparing Ashkenazi Jewish women with personal/familial history of cancer (N=197) with the control group, where *P* values were significant regarding the polymorphisms studied, and with the participants who did not present personal/familial history of cancer (N=58), where *P* values were not statistically significant.

DISCUSSION

Evidences suggest that the 72Pro polymorphism may modify the risk for mutations in *BRCA1* or *BRCA2*, which are candidate breast cancer susceptibility

genes. The 72Pro allele was associated with early age for diagnosis of breast cancer in *BRCA1* mutations. The R72P polymorphism has been widely studied as a known variant of susceptibility to breast cancer that shows inconsistent results (43, 44). Recent studies suggest that polymorphic alleles at codon 72 of the *TP53* gene may play an important role in the increase of susceptibility to different forms of human cancers (9).

Unlike the reports in the scientific literature on the higher incidence of breast cancer among Ashkenazi women in North America and Europe, breast cancer seems to present a moderate standard among Ashkenazi women in Brazil (45).

Breast cancers greatly vary in clinical behavior, morphological appearance and molecular changes. The accumulated epidemiological data suggest that different types of breast cancer have different risk factors and thus may result from different etiological pathways (46).

Goode et al. (2002) have found a protective effect against death after breast cancer among patients who carried the Pro allele of R72P polymorphism of *TP53* gene, but the inclusion of other known prognostic variables have reduced the apparent protective effect. Several studies have shown that the R72P polymorphism of *TP53* may affect the lymph node metastasis in breast cancer and hence survival (ref. 47). Dumont et al. (2003) have indicated that the 72Arg variant of *TP53* induces apoptosis markedly better than the 72Pro variant and therefore suggest that these variants may alter the risks of cancer and that the 72Arg homozygotes may more favorably respond to radiation or chemotherapy (ref. 48).

Statistical tests applied to this study have shown that there were significant differences between the presented genotypes and alleles and their respective controls in *TP53*. Case-control studies are important in genetic epidemiology, although they can only establish one association; hence, other mechanisms are needed to determine the causality of these associations (49). Empirical evidences suggest that, in about 10% of this type of study, the distribution of genotypes in the healthy control group violates HWE; that is, they formally show statistically significant deviations from the HWE-expected frequencies (50, 51).

The study by Costa et al. (2008) has also found a deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in the sample of patients with breast cancer, with relation to the referred polymorphism of the *TP53* gene; in addition, several factors may be responsible for this deviation (ref. 52). It is known that some factors may be directly

related to this deviation: natural selection, mutation, population heterogeneity, migration, genetic drift, the presence of silent alleles that mask the expression of heterozygotes (making them indistinguishable from the other homozygotes), consanguineous marriages, and even genotyping errors. These events can alter allele frequencies as they can endanger the balance of a population (53, 54). Association studies often do not provide sufficient information to objectively prove which of these causes may be responsible for the unbalance, keeping it in the dark (55). In the case of the Ashkenazi Jewish population, one can see some of these events, such as the genetic drift, which is related to an event known as *bottleneck*; it consists of a reduction in population size (due to migration, disasters, etc.), thus causing random changes in allele frequencies. An initial reduction in the variability of the population could be observed; after any of these population events, some representatives of each allele found new populations, but as the gene flow occurs between those little variable representatives, they consequently diverge a lot from another founded population; yet, the ancestral population is that culminating in the high diversity among these populations. Another factor required for HWE is that the population is *panmictic*, i.e., it must be large enough for the crossings to occur at random; that could not be observed in the present study sample, given that weddings were very selective and even consanguine, as the Jewish community is very interrelated. Another issue possibly related to the imbalance is associated with the divergence that could have been in ancestors of the sample, since there is only a single common ancestor for all, especially considering the worldwide distribution of the ancestors of the participants of this study (Figure 1), which have representatives in several countries and that could affect the HWE. The Jewish population is widely studied due to historical and evolutionary factors that make them subject of study, considering that common mutations that pass from generation to generation are very frequent among them.

The odds ratio value for the occurrence of the proline allele in homozygosis was expressed in the predictive range of the safety factor. Epidemiological data of the participants show that this genotype can be really acting in this sense, given that there have been much more cancer cases among women with Arg/Arg and Arg/Pro genotypes (both breast and other types) than among women with Pro/Pro genotypes, who have not developed breast cancer so far. One of them has developed skin

cancer, but this fact may be associated with environmental factors such as exposure to ultraviolet radiation, for example, but not necessarily to genetic predisposition.

Kawajiri et al. (1993) have identified an association between the Pro/Pro genotype and increased risks of developing lung cancer (ref. 56). In a study conducted by Sjölander et al. (1996), the Pro/Pro genotype was associated with increased risks of developing breast cancer (ref. 57). On the other hand, Costa et al. (2008) have not observed associations between R72P polymorphism and breast cancer in their study, although that is commonly observed in several studies (ref. 52). Buyru et al. (2007) have noted that, when compared with the controls, the Pro/Pro genotype was less frequent in breast cancer patients (ref. 9).

In a study conducted by Ohayon et al. (2005) involving Ashkenazi Jewish women from Israel, it has been found that the Arg/Arg genotype is associated with increased risks of developing breast cancer (ref. 58). At the present study, we observed that 61% of the participants had this genotype and amongst the 3 individuals that presented with breast cancer at the moment of blood collection, 2 were Arg/Arg.

Weston et al. (1997) have found differences between genotypes and their consequences in different ethnic groups. There was a significant difference in the allelic distribution among Caucasians and Hispanics. There was no difference between Hispanic and Afro-Americans. The Arg/Arg genotype was more representative in Caucasians and Hispanics, whereas in Afro-Americans, there was a higher prevalence of the Pro/Pro variant (ref. 59).

Several studies have shown an association between the R72P polymorphism of the *TP53* gene and increased risks of developing breast cancer or other types of cancer; yet, many studies have included relatively small samples and that leads to inconsistent or contradictory results. The results found by Tommiska et al. (2005) indicate that the R72P genotypes are not associated with increased risks of breast cancer among patients with a family history of breast cancer and controls. The genotype frequencies of R72P, the potential modifying effect on the risk of breast cancer among *BRCA1* and *BRCA2* genes and the mutations they can carry have been evaluated. Patients who had mutations in *BRCA2* and carried the Pro allele (homozygous or heterozygous) were diagnosed with breast cancer younger than those with homozygous Arg allele (ref. 60). In our sample, we did not find individuals

carrying the R72P polymorphism and common mutations in *BRCA1* and *BRCA2* at the same time.

Martin et al. (2003) have found that the presence of 72Pro in combined analysis of *BRCA1* and *BRCA2* mutations was associated with early age of breast cancer detection (approximately 32 years old); on the other hand, the average age of diagnosis for individuals homozygous for Arg was 42 years. This association was limited to mutations in *BRCA1* and no mutations have been observed in *BRCA2* (ref. 43).

The frequency of *MTHFR* polymorphisms varies in terms of geographical origin; these genetic variants frequently occur among Caucasians, Asians, Hispanics and Mexicans (rarely in Africans), with a prevalence rate of approximately 25-45% (61, 62). A study conducted by Rady et al. (1999) involving an Ashkenazi Jewish population from the United States has revealed a frequency of 26.5% for the homozygous variant (677TT) and 27.2% for 1298CC homozygotes (ref. 63). Our study found a similar frequency for the 677TT genotype (22%) and a reduced frequency for 1298CC homozygous (7.5%). Amongst the 19 participants with the 1298CC genotype, only one presented personal history of cancer (thyroid) and 16 present familial history (breast, larynx, lymphoma, liver, ovary, intestine, among others). Martin et al. (2006) have reported an interaction between C677T/A1298C polymorphisms and race/ethnicity in breast cancer survival, thus indicating that the demographic origin of patients can be a significant modifier of the effect of *MTHFR* polymorphisms. The prevalence rate of 677TT genotype ranges from 1% in black populations from the United States, Sub-Saharan Africa and South America, to more than 20% in U.S. Hispanics, Colombians and Amerindians in Brazil. The frequency rate of this genotype in white populations from Europe, North America and Australia was 8-20%, while in Japan the rate for TT homozygous was 20% (ref. 64). With respect to the A1298C polymorphism, the prevalence of CC genotype in North America (mostly in white people) was 12.7% (65). In studies involving Hispanics and African-Americans, the prevalence of CC was respectively 4.5% and 4.2% (66-69). In Europe, the prevalence of this genotype was 4-12% in most studies. Studies involving randomly selected individuals in northeastern Scotland showed frequencies of 15 and 18% (70, 71). In Chinese, Japanese and Hawaiian populations, 1-4% of individuals are CC (65, 69). In studies conducted in Brazil, Morocco, South Africa and

Turkey, and among Ashkenazi Jews from Israel, the frequencies were respectively 6%, 3%, 4%, 6% and 13% (72-76).

The study by Macis et al. (2007) has revealed an association of 677TT genotype with increased risks of developing breast cancer in premenopausal women (ref. 77). Although no significant results have been obtained, Çam et al. (2009) have also found a greater tendency towards the association of 677TT genotype with breast cancer patients (11.9%) than in controls (6.3%), hence supporting the hypothesis that *MTHFR* polymorphism may influence breast cancer risks (ref. 78). From the 56 participants of the present study Who presented the 677TT genotype, only one developed breast cancer, as well as her sister. Regarding only familial history, 41 women have relatives Who developed several types of cancers, being 21 specifically breast cancer. Few studies have examined the relationship between *MTHFR* polymorphisms, in relation to breast cancer risks associated with intake of folate and related nutrients. In a study conducted in China, Shrubsole et al. (2001) report the folate-gene interaction, in which the C677T polymorphism was not an independent predictor of increased risks of breast cancer, whereas individuals with the 677TT genotype were more susceptible to breast cancer when the dietary intake of folate was low (ref. 79).

Ergul et al. (2003) have examined the relationship of C677T e A1298C polyphormisms of *MTHFR* gene in breast cancer patients. A total of 118 premenopausal women and 193 controls have been genotyped. The frequencies of 677CC, 677CT and 677TT were, respectively, 50.8, 33.9 and 14.4% in breast cancer patients and 48.7, 45.1 and 6.2% in controls. The *MTHFR* 1298CC and 677TT genotypes showed 2.5 and 1.9 times greater risk of developing breast cancer, respectively. Genotypes 677TT/1298AA and 677CC/1298CC showed an increased risk in relation to breast cancer, which was 4472 and 2301 times higher (OR = 4,472, $P = 0.001$, and OR = 2,301, $P = 0.024$). This publication suggests that the 677TT, 1298CC genotypes and combined genotypes 677CC/1298CC and 677TT/1298AA are genetic risk factors for sporadic breast cancer in premenopausal women (ref. 80).

Despite strong epidemiological evidences, few studies have investigated the influence of *MTHFR* polymorphisms in breast cancer cases. Gershoni-Baruch (2000) has demonstrated that the valine allele (which replaces alanine in the C677T polymorphism and confers low *MTHFR* activity) occurs more frequently among Ashkenazi Jewish women diagnosed with bilateral breast cancer or those with both

breast and ovarian cancer (ref. 1). Another study involving Scottish participants with breast cancer (random sample) have not detected any association between C677T polymorphism and risks of developing this type of cancer; yet, this was a very small sample with only 62 cases and 66 controls, i.e., the statistical power of the analysis was low (ref. 71).

CONCLUSION

The discrepancy observed between the results of studies involving both R72P polymorphism (*TP53*) and the *MTHFR* polymorphisms (C677T and A1298C) is possibly associated with ethnic differences and environmental factors that can interact with genetic factors (33, 81).

Cancer is one of the most common diseases among the population analyzed in this study; in addition its etiology is complex and involves genetic and environmental factors such as hormones and lifestyle. Understanding the various factors related to the disease is the key to understand its causes and facilitate the development of effective prevention methods and innovative therapies through the evaluation of new strategies proposed for restoring lost functions of genes related to cancer development (4, 82).

The Arg/Arg genotype could be a potential risk factor for cancer, but not all studies are consistent on that point and this hypothesis of association becomes controversial. Studies show that, although the retention of the Arg allele in tumor tissues of heterozygous patients cannot influence the specific clinical picture, it could be associated with reduced survival in patients with this genotype (83, 84).

In previous studies, conflicts regarding the association of *MTHFR* polymorphisms (C677T and A1298C) with risks of developing breast cancer can be ascribed to variations in sample size and design, specifically to ethnicity and non-sporadic breast cancers (85). Observations about the genotypes of *MTHFR* homozygotes and a negative association concerning the risks of developing carcinoma are opposite to what was expected, thus leading researchers to consider the folate metabolic pathway, in which the roles of folate and *MTHFR* in DNA synthesis are given emphasis (86).

In order to consistently evaluate the influence of ethnic and racial differences that may affect the results of studies, it is important that the samples are amplified

and diversified; aspects such as diet, smoking, drinking, consanguineous marriages, among others, should be also considered in the analysis of data so that better answers are found to the questions raised by hypothesis, hence eliminating possible confounding factors.

Given that cancer is one of the diseases that most affect people worldwide, genetic counseling emerges as an alternative for prevention, particularly in populations whose susceptibility was proven by previous studies. As time goes by, the human genome is better known. Considering that, several mutations and polymorphisms involved in the development of various types of cancer have been described; thus, studying these and other potential genetic markers and determining the genotypes can be an alternative for early diagnosis, taking into account that if the individual shows any of these molecular changes, he or she could be monitored with guidelines on prevention, management, treatment and follow-up. Moreover, regardless of personal or family history, the characterization of the prevalence of specific polymorphisms in the Ashkenazi Jewish population of Brazil could contribute to understanding the increased incidence of cancer in this population, in comparison with other populations and epidemiological data relevant for a better understanding of genetics and medical clinic.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our sincere thanks to Dr Aldo Mellender de Araújo for your valuable contribution in the Hardy-Weinberg's analysis.

REFERENCES CITED

1. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D, Kasinetz L, Kadouri E, Friedman E. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer* 2000;36(18):2313-6.
2. Instituto Nacional do Câncer (INCa). Available in: <http://www.inca.gov.br> (accessed 08/04/11).

3. International Agency for Research on Cancer (IARC). Available in: <http://globocan.iarc.fr/factsheets/cancers/breast.asp> (accessed 08/04/11).
4. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2001;408:307-10.
5. Harris CC. p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science* 1991;253: 49–53.
6. Feki A, Irminger-Finger I. Mutational spectrum of p53 mutations in primary breast and ovarian tumors. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;52:103-16.
7. Gasco M, Yulug IG, Crook T. TP53 mutations in familial breast cancer: functional aspects. *Hum Mutat* 2003;21:301-6.
8. Davidoff AM, Humphrey PA, Iglehart JD, Marks JR. Genetic basis for p53 overexpression in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5006-10.
9. Buyru N, Altinisik J, Demokan S, Dalay N. p53 genotypes and haplotypes associated with risk of breast cancer. *Cancer Detection and Prevention* 2007;31:207–13.
10. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989;57:1083-93.
11. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hosteller R, Cleary K, Signer SH, Davidson N, Baylin S, Devilee P, Glover T, Collins FS, Weslon A, Modali R, Harris CC, Vogelstein B. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989;342:705-8.
12. Ko LJ, Prives C. p53: puzzle and paradigm. *Genes Dev* 1996;10:1054-72.

13. Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 2002;19:607-14.
14. Pietsch EC, Humbey O, Murphy ME. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006;25:1602-11.
15. Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L, Matlashewski G. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *Mol Cell Biol* 1999;19:1092–100.
16. Ford D, Easton DF. The genetics of breast and ovarian cancer. *British journal of cancer* 1995;72(4):805-12.
17. Vollset SE, Igland J, Jenab M, et al. The association of gastric cancer risk with plasma folate, cobalamin, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:2416–24.
18. Zintzaras E. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. *J Hum Genet.* 2006;51:618–24.
19. Sun L, Sun YH, Wang B, Cao HY, Yu C. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and susceptibility to gastric cancer in Chinese populations: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev.* 2008;17:446–52.
20. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology.* 2006;131:1271–83.
21. Boccia S, Hung R, Ricciardi G, et al. Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: a HuGE-GSEC review. *Am J Epidemiol.* 2008;167:505–16.

22. Blount BC, Mack MM, Wehr CM, et al. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:3290–5.
23. Kim YI. Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications. *J Nutr Biochem*. 1999;10:66–88.
24. Wainfan E, Poirier LA. Methyl groups in carcinogenesis: effects on DNA methylation and gene expression. *Cancer Res*. 1992;52:2071s–7.
25. Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, Roddam AW, Key TJ. Folic acid intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. *Int J Cancer*. 2005;113:825–8.
26. Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, et al. MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13:190–6.
27. Kobayashi M, Tsubono Y, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S. Vegetables, fruit and risk of gastric cancer in Japan: a 10-year follow-up of the JPHC Study Cohort I. *Int J Cancer*. 2002;102:39–44.
28. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Fruit and vegetable consumption and incidence of gastric cancer: a prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:1998–2001.
29. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol*. 2003;56:1–9.
30. Tao MH, Shields PG, Nie J, Marian C, Ambrosone CB, McCann SE, Platek M, Krishnan SS, Xie B, Edge SB, Winston J, Vito D, Trevisan M, Freudenheim JL. DNA Promoter Methylation in Breast Tumors: No Association with Genetic Polymorphisms in MTHFR and MTR. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;3:998-1002.

31. Chen J, Gammon MD, Chan W, Palomeque C, Wetmur JG, Kabat GC, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Neugut AI, Santella RM. One-carbon metabolism, MTHFR polymorphisms, and risk of breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:1606–14.
32. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. *Nat. Genet.* 1994;2:195–200.
33. De Mattia E, Toffoli G. C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalization. *European Journal of Cancer* 2009;45:1333-51.
34. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in U.S. physicians. *Circulation* 1996;94:2410–6.
35. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase [letter]. *Nat Genet* 1995;10:111-3.
36. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 1998;62:1044–51.
37. Goodman RM. Genetic disorders among the Jewish people. Johns Hopkins University Press, Baltimore 1979;512p.
38. Risch N, Tang H, Katzenstein H, Ekstein J. Geographic distribution of disease mutations in the Ashkenazi Jewish population supports genetic drift over selection. *Am J Hum Genet* 2003;72(4):812-22.
39. Slatkin MA. population-genetic test of founder effects and implications for Ashkenazi Jewish diseases. *Am J Hum Genet* 2004;75(2):282-93.

40. Risch N. Molecular epidemiology of Tay-Sachs disease. *Adv Genet* 2001;44:233–52.
41. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cell. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
42. Leistner-Segal S, Pilger DA, Kaspary APB, Lopez PLC, Segal F. The TP53 gene R72P polymorphism analysis in patients with Barrett esophagus compared to normal controls. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2006;170:76-7.
43. Martin AM, Kanetsky PA, Amirimani B, Colligon TA, Athanasiadis G, Shih HA, Gerrero MR, Calzone K, Rebbeck TR, Weber BL. Germline TP53 mutations in breast cancer families with multiple primary cancers: is TP53 a modifier of BRCA1? *J Med Genet* 2003;40:e34.
44. Osorio A, Martinez-Delgado B, Pollan M, Cuadros M, Urioste M, Torrenteras C, Melchor L, Diez O, De La HM, Velasco E, Gonzales-Sarmiento R, Caldes T, Alonso C, Benitez J. A haplotype containing the p53 polymorphisms Ins16bp and Arg72Pro modifies cancer risk in BRCA2 mutation carriers. *Hum Mutat* 2006;27:242-48.
45. Koifman S, Koifman RJ. Breast cancer mortality among Ashkenazi Jewish women in São Paulo and Porto Alegre, Brazil. *Breast Cancer Res* 2001;3(4):270-5.
46. Garcia-Closas M, Hall P, Nevanlinna H, Pooley K, Morrison J et al. Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *PLoS Genet* 2008;4(4):e1000054.
47. Goode EL, Dunning AM, Kuschel B, Healey CS, Day NE, Ponder BA, Easton DF, Pharoah PP. Effect of germ-line genetic variation on breast cancer survival in a population-based study. *Cancer Res* 2002;62:3052–57.
48. Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC 3rd, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 2003;33:357–65.

49. Sasieni PD. From genotypes to genes: doubling the sample size. *Biometrics* 1997;53:1253-61.
50. Holsking L, Lumsden S, Lewis K, Yeo A, McCarthy L, Bansal A, Riley J, Purvis I, Xu CF. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. *Eur J Hum Genet* 2004;12:395-99.
51. Salanti G, Amountza G, Ntzani EE, Ioannidis JP. Hardy-Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations, and power. *Eur J Hum Genet* 2005;13:840-48.
52. Costa S, Pinto D, Pereira D, Rodrigues H, Cameselle-Teijeiro J, Medeiros R, Schmitt F. Importance of TP53 codon 72 and intron 3 duplication 16bp polymorphisms in prediction of susceptibility on breast cancer. *BMC Cancer* 2008;8:32.
53. Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF. *The genetics of human populations*. W.H. Freeman and Company 1971; San Francisco, 984p.
54. Khoury MJ, Beaty TH, Cohen BH. eds. *Fundamentals of genetic epidemiology*. New York, NY: Oxford University Press, 1993, 400p.
55. Pritchard JK, Stephens M, Rosenberg NA et al. (2000) Association mapping in structured populations. *Am. J. Hum. Genet* 2000;67:171-81.
56. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Watanabe J, Hayashi S. Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis* 1993;14:1085-89.
57. Sjölander A, Birgander R, hallmans G, Cajander S, Lenner P, Athlin L, Beckman G, Beckman L. p53 polymorphisms and haplotypes in breast cancer. *Carcinogenesis* 1996;17(6):1313-16.

58. Ohayon T, Gershoni-Baruch R, Papa MZ, Distelman MT, Eisenberg BS, Friedman E. The R72P P53 mutation is associated with familial breast cancer in Jewish women. *Br J Cancer* 2005;92(6):1144-48.
59. Weston A, Pan CF, Ksieski HB, Wallenstein S, Berkowitz GS, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Brower ST, Senie RT, Wolff MS. p53 haplotype determination in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6(2):105-12.
60. Tommiska J, Eerola H, Heinonen M, Salonen L, Kaare M, Tallila J, Ristimäki A, von Smitten K, Aittomäki K, Heikkilä P, Blomqvist C, Nevanlinna H. Breast cancer patients with p53 Pro72 homozygous genotype have a poorer survival. *Clin Cancer Res* 2005;11(14):5098-51035.
61. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000;151:862–77.
62. Inoue S, Hashiguchi M, Chiyoda T, Sunami Y, Tanaka T, Mochizuki M. Pharmacogenetic study of methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase in Japanese and assessment of ethnic and gender differences. *Pharmacogenomics* 2007;8:41–7.
63. Rady PL, Tying SK, Hudnall SD, Vargas T, Kellner LH, Nitowsky H, Matalon RK. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR): The Incidence of Mutations C677T and A1298C in the Ashkenazi Jewish Population. *American Journal of Medical Genetics* 1999;86:380-84.
64. Martin DN, Boersma BJ, Howe TM. Association of MTHFR gene polymorphisms with breast cancer survival. *BMC Cancer* 2006;6:257.
65. Robien K, Ulrich CM. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol* 2003;157:571–82.

66. Barber R, Shalat S, Hendricks K, et al. Investigation of folate pathway gene polymorphisms and the incidence of neural tube defects in a Texas Hispanic population. *Mol Genet Metab* 2000;70:45–52.
67. Volcik KA, Blanton SH, Tyerman GH, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and spina bifida: evaluation of level of defect and maternal genotypic risk in Hispanics. *Am J Méd Genet* 2000;95:21–7.
68. Peng F, Labelle LA, Rainey BJ, et al. Single nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are common in US Caucasian and Hispanic American populations. *Int J Mol Med* 2001;8:509–11.
69. Le Marchand L, Donlon T, Hankin JH, et al. B-vitamin intake, metabolic genes, and colorectal cancer risk (United States). *Cancer Causes Control* 2002;13:239–48.
70. Sharp L, Little J, Schofield AC, et al. Folate and breast cancer: the role of polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Cancer Lett* 2002;181:65–71.
71. Sharp L, Little J, Brockton N, et al. Dietary intake of folate and related micronutrients, genetic polymorphisms in MTHFR and colorectal cancer: a population-based case-control study in Scotland. (Abstract). *J Nutr* 2002;132(11S):3542S.
72. Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, et al. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. *J Nutr* 1999;129:1656–61.
73. Anwar W, Guéant JL, Abdelmoutaleb I, et al. Hyperhomocysteinemia is related to residual glomerular filtration and folate, but not to methylenetetrahydrofolate-reductase and methionine synthase polymorphisms, in supplemented endstage renal disease patients undergoing hemodialysis. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:747–52.

74. Brunelli das Neves Grillo L, Acácio GL, Barini R, et al. Mutations in the methylene-tetrahydrofolate reductase gene and Down syndrome. *Cad Saude Publica* 2002;18:1795–7.
75. Akar N, Akar E, Akcay R, et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T, 1298 A-C, and 1317 T-C on factor V 1691 mutation in Turkish deep vein thrombosis patients. *Thromb Res* 2000;91:163–7.
76. Gebhardt GS, Scholtz CL, Hillermann R, et al. Combined heterozygosity for methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations C677T and A1298C is associated with abruptio placentae but not with intrauterine growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;97:174–7.
77. Macis D, Maisonneuve P, Johansson H, Bonanni B, Botteri E, Iodice S, Santillo B, Penco S, Gucciardo G, D’Aiuto G, Rosselli Del Turco M, Amadori M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled metaanalysis. *Breast cancer research and treatment* 2007;106:263–71.
78. Çam R, Eroglu A, Egin Y, Akar N. Dihydrofolate reductase (DHRF) 19-bp intron-1 deletion and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;115(2):431-2.
79. Shrubsole MJ, Jin F, Dai Q, et al. Dietary folate intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Res* 2001;61:7136–41.
80. Ergul E, Sazci A, Utkan Z, Canturk NZ. Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer. *Tumour Biol.* 2003;24(6):286-90.
81. de Moura Gallo CV, Azevedo E Silva Mendonça G, de Moraes E, Olivier M, Hainaut P. TP53 mutations as biomarkers for cancer epidemiology in Latin America: current knowledge and perspectives. *Mutat Res.* 2005;589(3):192-207.

82. John EM, Hopper JL, Beck JC, Knight JA, Neuhausen SL, Senie RT, Ziogas A, Andrulis IL, Anton-Culver H, Boyd N, Buys SS, Daly MB, O'Malley FP, Santella RM, Southey MC, Venne VL, Venter DJ, West DW, Whittemore AS, Seminara D, Breast Cancer Family Registry. The Breast Cancer Family Registry: an infrastructure for cooperative multinational, interdisciplinary and translational studies of the genetic epidemiology of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004;6(4):375-89.
83. Buyru N, Tigli H, Dalay N. P53 codon 72 polymorphism in breast cancer. *Oncol Rep* 2003;10(3):711-14.
84. Bonafé M, Ceccarelli C, Farabegoli F, Santini D, Taffurelli M, Barbi C, Marzi E et al. Retention of the p53 codon 72 arginine is associated with a reduction of disease-free and overall survival in arginine/proline heterozygous breast cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2003;9:4860–64.
85. Justenhoven C, Hamann U, Pierl CB, Rabstein S, Pesch B, Harth V, Baisch C, Vollmert C, Illig T, Brüning T, Ko Y, Brauch H. One-carbon metabolism and breast cancer risk: no association of MTHFR, MTR, and TYMS polymorphisms in the GENICA study from Germany. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(12):3015-8.
86. Sharp L, Little J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2004;159(5):423-43.

Table 1: Frequency of genotypic polymorphisms R72P (TP53) and C677T/A1298C (MTHFR) in Ashkenazi Jewish women of Porto Alegre and the control group, intra and intergroup analysis.

	TP53			MTHFR			A1298C		
	R72P			C677T			A1298C		
	RR	RP	PP	CC	CT	TT	AA	AC	CC
Ashkenazi Jewish (N = 255)	156 (61%)	94 (37%)	5 (2%)	78 (31%)	121 (47%)	56 (22%)	126 (49,4%)	110 (43,1%)	19 (7,5%)
Controls (N = 255)	110 (43%)	112 (44%)	33 (13%)	106 (42%)	123 (48%)	26 (10%)	154 (60%)	88 (35%)	13 (5%)
P		< 0,001			< 0,001			0,041	
Ashkenazi Jewish without PH (N = 240)	148 (62%)	88 (36%)	4 (2%)	72 (30%)	118 (49%)	50 (21%)	118 (49,2%)	104 (43,3%)	18 (7,5%)
Controle (N = 255)	110 (43%)	112 (44%)	33 (13%)	106 (42%)	123 (48%)	26 (10%)	154 (60%)	88 (35%)	13 (5%)
P		< 0.001			0.002			0,359	
Ashkenazi Jewish with PH/FH* (N = 197)	122 (62%)	71 (36%)	4 (2%)	58 (29,4%)	94 (47,7%)	45 (22,8%)	95 (48,2%)	84 (42,6%)	18 (9,1%)
Controls (N = 255)	110 (43%)	112 (44%)	33 (13%)	106 (42%)	123 (48%)	26 (10%)	154 (60%)	88 (35%)	13 (5%)
P		<0,0001			<0,0001			0,023	
Ashkenazi Jewish with PH-FH (N = 197)	122 (61,9%)	71 (36%)	4 (2%)	58 (29,4%)	94 (47,7%)	45 (22,8%)	95 (48%)	84 (43%)	18 (9%)
Ashkenazi Jewish without PH-FH (N = 58)	34 (58,6%)	23 (39,7%)	1 (1,7%)	20 (34,5%)	27 (46,6%)	11 (19%)	31 (53,4%)	26 (44,8%)	1 (1,7%)
P		0,855			0,708			0,174	

*PH/FH: Personal/familial history of cancer

Table 2: Allele frequencies found in Ashkenazi Jewish women of Porto Alegre and control group for the polymorphisms R72P (TP53) and C677T/A1298C (MTHFR)

	TP53		MTHFR			
	R72P		C677T		A1298C	
<i>Alleles</i>	R	P	C	T	A	C
Ashkenazi Jewish (N = 255)	406 (55%)	104 (37%)	277 (45%)	233 (57%)	362 (48%)	148 (56%)
Controls (N = 255)	332 (45%)	178 (63%)	335 (55%)	175 (43%)	396 (52%)	114 (44%)
P		< 0.001		<0.001		0.018

Table 3: Odds ratios for genotypes of interest and TP53 polymorphisms of MTHFR and TP53

<i>SNP</i>		<i>OR</i>	<i>Confidence Interval (95%)</i>
MTHFR			
C677T	CC	1.0	
	CT	1.0	
	TT	2.479	1.46 to 4.27
P		<0.001	
A1298C	AA	1.0	
	AC	1.0	
	CC	1.49	0.68 to 3.38
P		0.041	
TP53			
R72P	RR	1,0	
	RP	1,0	
	PP	0,135	0.04 to 0.36
P		< 0,001	

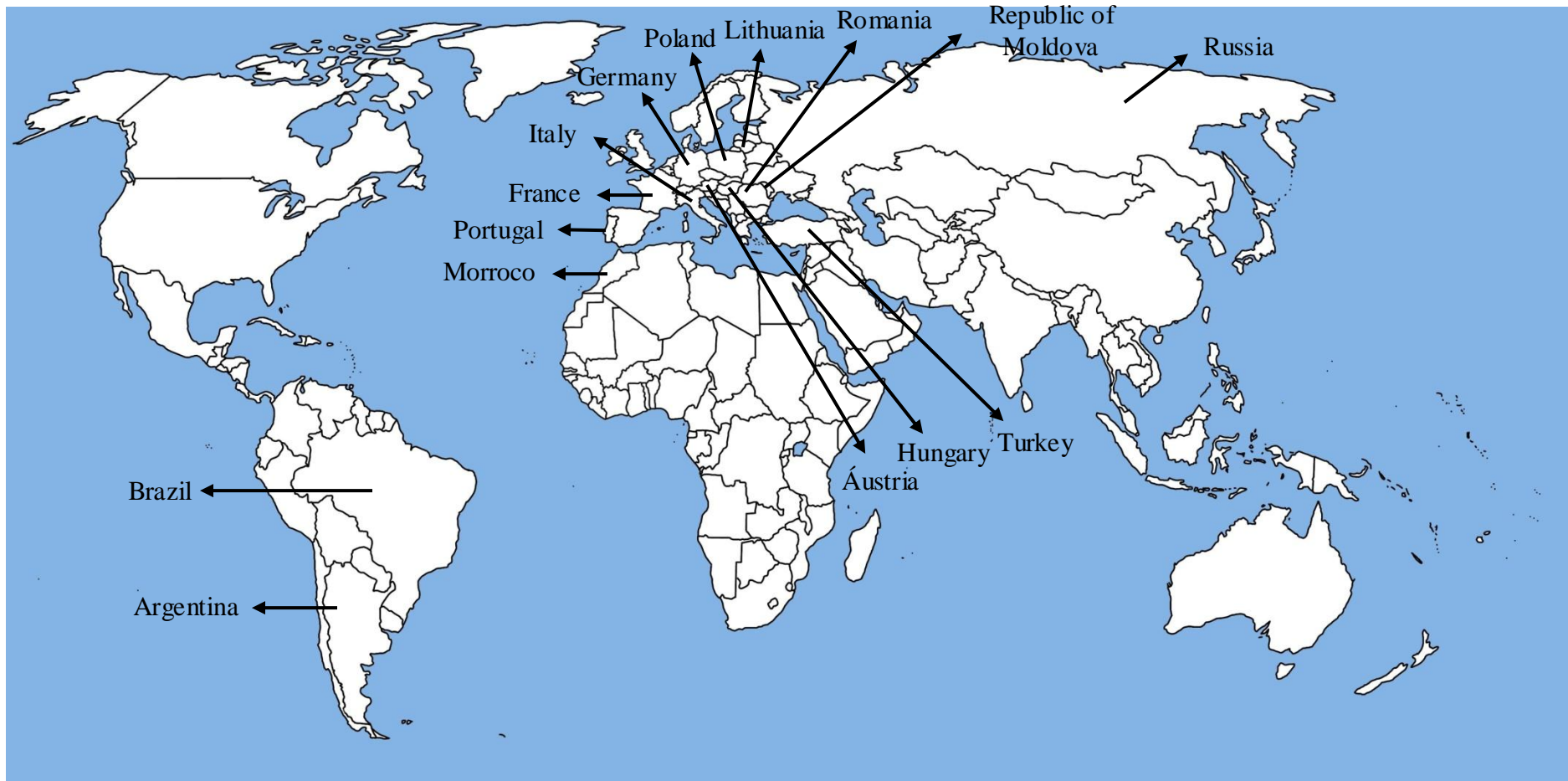


Figure 1: Location of Ashkenazi Jewish ancestors of the study participants. (Adapted from: http://www.portafolios.com.br/iej/tarefas_n011/MapaMundi.jpg)

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

As diferenças encontradas entre os estudos que envolvem tanto o polimorfismo R72P (TP53) quanto os polimorfismos de MTHFR (C677T e A1298C) possivelmente está associada a diferenças étnicas e fatores ambientais que podem interagir com os fatores genéticos (Gallo *et al.*, 2005; De Mattia *et al.*, 2009).

A etiologia do câncer é complexa e envolve fatores genéticos e ambientais como fatores hormonais e modo de vida. Entender os diversos fatores relacionados à doença é a chave para entender suas causas e facilitar o desenvolvimento de prevenção efetiva e formas inovadoras de terapia avaliando novas estratégias propostas para restabelecer funções perdidas de genes relacionados ao desenvolvimento de câncer (Vogelstein *et al.*, 2001; John *et al.*, 2004).

Ampliar e diversificar as amostras e marcadores se faz necessário para avaliar consistentemente a influência das diferenças étnicas e raciais nos resultados dos estudos. Aspectos como alimentação, hábito de beber e fumar, casamentos consangüíneos, entre outros, devem ser considerados nas análises de dados, buscando uma melhor resposta em relação às hipóteses levantadas e assim eliminando da análise possíveis variáveis de confusão.

Tendo em vista que o câncer é uma das doenças que mais acomete pessoas no mundo todo, o aconselhamento genético emerge como uma alternativa de prevenção, principalmente em populações que apresentam suscetibilidade comprovada por pesquisas prévias. Com a evolução do conhecimento a respeito do genoma humano, com a descrição de diversas mutações e polimorfismos que estão envolvidos no desenvolvimento de vários tipos de câncer, entre outras doenças, estudar estes e outros possíveis marcadores genéticos e determinar o genótipo dos participantes desta e de outras pesquisas na área, pode ser uma alternativa de diagnóstico precoce, visto que, se o indivíduo apresentar alguma alteração molecular, poderá ser monitorado com orientações sobre prevenção, manejo, tratamento e seguimento. Além disto, a caracterização da prevalência de polimorfismos específicos em uma amostra da população de Judias Ashkenazi do Brasil, independente da história pessoal ou familiar, poderá contribuir para o entendimento da incidência aumentada de câncer nesta população em comparação com outras populações e produzirá dados epidemiológicos relevantes para um melhor entendimento entre a genética e a medicina.

8. ANEXOS

8.1. ANEXO 1

CARTA AS PARTICIPANTES

Projeto de Pesquisa: PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO R72P NO GENE TP53 E C677T / A1298C DO GENE DA *METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE* (MTHFR) EM MULHERES JUDIAS ASHKENAZI DE PORTO ALEGRE

Pesquisador Responsável: Dra. Sandra Leistner-Segal

Médica responsável: Dra. Eleonora Souza Dias

Prezada Sra. _____

Em Janeiro de 1996 iniciamos um trabalho junto à população judaica porto-alegrense, para análise de uma mutação específica no gene BRCA1 que está relacionada a um risco aumentado para câncer de mama e ovário em mulheres judias de origem Ashkenazi.

Após o início deste estudo, foram descritas outras duas mutações, também freqüentes entre judias, uma no gene BRCA1 e outra no gene BRCA2, que compõe o “genótipo de suscetibilidade”. Estima-se que uma em cada quarenta mulheres desse grupo apresentem uma das mutações, que predispõem ao câncer de mama.

Estamos ampliando o estudo inicial adicionando também outros polimorfismos que podem estar presentes numa freqüência maior nesta população nos genes TP53 e MTHFR. Nosso objetivo é verificar se existe uma prevalência aumentada de alterações nestes genes na população Judia Ashkenazi de Porto Alegre.

Caso a Sra. deseje participar ou não de mais essa etapa desse projeto, por favor, encaminhe uma carta ou e-mail ou telefone solicitando a inclusão ou não do seu material, no prazo de 60 dias após o recebimento desta correspondência para:

Dra. Sandra Leistner-Segal
Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Serviço de Genética Médica
Rua Ramiro Barcelos, 2350, 3º andar, Centro de Pesquisas
90035-903, Porto Alegre, RS
Email: ssegal@hcpa.ufrgs.br

O resultado final da pesquisa será divulgado após término do projeto e caso alguma alteração seja encontrada no seu DNA, entraremos em contato para explicar achados laboratoriais e fornecer informações sobre o significado desses achados. Estamos à disposição para quaisquer outros esclarecimentos que se façam necessários através do telefone (51) 3359-8011. (Dra. Sandra Leistner-Segal).

8.2. ANEXO 2

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO PREENCHIDO PELAS PARTICIPANTES

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE MULHERES JUDIAS ASHKENAZI, DA POPULAÇÃO PORTO ALEGRENSE, EM RELAÇÃO A MUTAÇÃO GENÉTICA ESPECÍFICA PARA CÂNCER DE MAMA

- ANAMNESE 01. DATA: __/__/__ 02. n° da ficha: N° _____
03. Nome: _____
04. Idade: ____ ANOS 05. Data de nascimento: __/__/__ 06. Peso: ____ kg 07. Altura: ____ cm
08. Naturalidade: _____ 09. Profissão: _____
10. Endereço: _____ 11. CEP: _____
12. Bairro: _____ 13. Município: _____ 14. Estado _____
15. Telefone residencial/contato: _____ 16. Telefone comercial: _____
- Origem Judaica (se é Ashkenazi): 17. Materna- _____ 18. Paterna- _____
19. Idade da primeira menstruação: ____ ANOS 20. Data do início da última menstruação: __/__/__
21. Padrão menstrual: REGULAR__ IRREGULAR__ 22. Idade Menopausa: ____ ANOS
23. Foi espontânea __ Cirúrgica __ 24. Fez ou faz reposição hormonal: SIM __ NÃO __
25. Duração: ____ ANOS ____ MESES 26. Nome do hormônio: _____
27. N° de gestações: ____ 28. N° de partos/cesáreas: ____ 29. N° de abortos: ____
30. Usa ou já usou anticoncepcional oral? SIM NÃO 31. Idade de início do uso do ACO: ____ ANOS
32. Quanto tempo usa/usou: ____ ANOS ____ MESES 33. Nome do ACO: _____
34. Se não engravidou, a causa é: INFERTILIDADE OPÇÃO PRÓPRIA
35. Fez tratamento para poder engravidar? SIM __ NÃO __ 36. Qual? _____
37. Idade do 1° parto: ____ ANOS 38. Idade do último parto: ____ ANOS
39. Amamentou? SIM __ NÃO __ 40. Quanto tempo amamentou? ____ MESES
41. Já teve alguma doença benigna na mama? SIM __ NÃO __ 42. Idade: ____ ANOS 43. Qual: _____
44. Já teve câncer de mama: SIM __ NÃO __ 45. Idade: ____ ANOS 46. Qual: _____
47. Já teve outro tipo de câncer: SIM __ NÃO __ 48. Idade: ____ ANOS 49. Qual: _____
50. Na sua família tem história de câncer? SIM __ NÃO __ 51. Número de casos: _____

PARENTESCO	P:	P:	P:	P:
IDADE	I:	I:	I:	I:
DIAGNÓSTICO				
TIPO DE CÂNCER	T:	T:	T:	T:

52. Fuma ou fumou: SIM ___ NÃO ___ 53. Tempo de fumante: ___ ANOS

54. Consumo de álcool: ___ DIÁRIO ___ EVENTUAL ___ NUNCA 55. Há quanto tempo: ___ ANOS

56. Uso regular de café, coca-cola, chá preto: SIM ___ NÃO ___

57. Medicações que usa regularmente:

QUAIS? _____

58. Uso regular de tranqüilizantes: SIM ___ NÃO ___

QUAIS: _____

59. Quantas vezes? ___ ANO ___ MÊS ___ SEMANA

60. Consumo regular de vitaminas nos últimos dez anos: ___ SIM ___ NÃO

61. Consumo de frutas há 1 ano atrás: ___ DIÁRIO ___ 4 a 6 DIAS/SEMANA ___ RARAMENTE ___ 1 a 3 DIAS/SEMANA

62. Consumo de legumes há 1 ano atrás: ___ DIÁRIO ___ 4 a 6 DIAS/SEMANA ___ RARAMENTE ___ 1 a 3 DIAS/SEMANA

63. Consumo de verduras há 1 ano atrás: ___ DIÁRIO ___ 4 a 6 DIAS/SEMANA ___ RARAMENTE ___ 1 a 3 DIAS/SEMANA

64. Consumo de carnes durante a adolescência: ___ DIÁRIO ___ 4 a 6 DIAS/SEMANA ___ RARAMENTE ___ 1 a 3 DIAS/SEMANA

65. Nº de abnegrafias e RX de tórax realizados até os 20 anos: _____ 66. Peso aos 18 anos: ___ kg

67. Nº do soutien que usava aos 18 anos: _____

9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO

9.1. MANUSCRITO 2

Brief Communication

(Submetido ao periódico *Familial Cancer*)

Editorial Manager(tm) for *Familial Cancer*
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Prevalence of 185delAG and 5382insC mutations in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 in Ashkenazi Jewish women in the southern most region of Brazil.

Article Type: Short Communication

Keywords: Ashkenazi Jews, Breast Cancer, BRCA1, BRCA2, Mutation

Corresponding Author: Sandra Leistner-Segal, PhD

Corresponding Author's Institution: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

First Author: Crisle Vignol Dillenburg, MSc

Order of Authors: Crisle Vignol Dillenburg, MSc; Isabel Cristina Bandeira, BSc; Taiana Valente Tubino; Luciana Graziotin Rossato, MSc; Eleonora Souza Dias, MD, MSc; Ana Cristina Bittelbrunn, MD, MSc; Sandra Leistner-Segal, PhD

Abstract: Common mutations in BRCA1 and BRCA2 genes are mainly frequent in the Ashkenazi Jewish population. Several factors are involved with this increased frequency, amongst them, consanguineous marriages and an event called "bottleneck", which occurred sometime ago and caused a drastic reduction in the genetic variability of this population. Several studies were performed along the years to try to demonstrate the involvement of BRCA1 and BRCA2 genes in the susceptibility to cancer, mainly breast. The objective of this study was to estimate the frequency of common mutations in BRCA1 (185delAG e 5382insC) and BRCA2 (6174delT) genes in an Ashkenazi Jewish population from Porto Alegre, Brazil. The molecular analyses were performed by PCR followed by RFLP (ACRS). The results found for BRCA1 185delAG and 5382insC were respectively 0,78 and 0%. For BRCA2 6174delT mutation, 0,4% were carriers. The data found are similar to the ones described worldwide.

BRCA1 / 2 common mutations in Ashkenazi Jews

Prevalence of 185delAG and 5382insC mutations in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 in Ashkenazi Jewish women in the southern most region of Brazil.

Crisle Vignol Dillenburg^{1*}, Isabel Cristina Bandeira^{1*}, Taiana Valente Tubino¹, Luciana Grazziotin Rossato¹, Eleonora Souza Dias², Ana Cristina Bittelbrunn³, Sandra Leistner-Segal^{1,4}

1- Breast and Ovarium DNA and Tissue Bank - Research Center - Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

2- Hospital Materno Infantil Presidente Vargas – Porto Alegre, Brazil

3- Mastology Service – Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

4- Molecular Genetics Laboratory, Medical Genetics Service – Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

* The two first authors contributed equally to this work

Correspondence to:

Dr Sandra Leistner-Segal

Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP 90035-903

Porto Alegre, RS, Brazil

E-mail: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Abstract

Common mutations in BRCA1 and BRCA2 genes are mainly frequent in the Ashkenazi Jewish population. Several factors are involved with this increased frequency, amongst them, consanguineous marriages and an event called “bottleneck”, which occurred sometime ago and caused a drastic reduction in the genetic variability of this population. Several studies were performed along the years to try to demonstrate the involvement of BRCA1 and BRCA2 genes in the susceptibility to cancer, mainly breast. The objective of this study was to estimate

the frequency of common mutations in BRCA1 (185delAG e 5382insC) and BRCA2 (6174delT) genes in an Ashkenazi Jewish population from Porto Alegre, Brazil. The molecular analyses were performed by PCR followed by RFLP (ACRS). The results found for BRCA1 185delAG and 5382insC were respectively 0,78 and 0%. For BRCA2 6174deT mutation, 0,4% were carriers. The data found are similar to the ones described worldwide.

Key-words: Ashkenazi Jews, Breast Cancer, BRCA1, BRCA2, Mutation

Introduction

Several factors could be responsible for the development of breast and ovarian cancers, but one of the most important until now is the presence of BRCA1 and BRCA2 (BRCA1/2) gene mutations. Although hereditary breast cancer encompasses only 5-10% of registered cases, individuals who present with mutations in these genes usually have a 40-80% increase chance of developing breast cancer [1–3]. Although several studies have tried to understand how BRCA1 and BRCA2 mutations could act in cancer susceptibility, it is not yet clear the variation regarding the risk which is observed in individuals presenting these mutations. In certain populations, the frequency of mutations in these genes is higher, as observed in Ashkenazi Jews, where BRCA1/2 mutations are present in 2-3% of them [4-6]. In this population, three mutations are more frequently found (185delAG and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2). Amongst Ashkenazi Jews with breast cancer, more than 12% bear one of these mutations [7]. These population studies corroborate the hypothesis that common mutations in BRCA1/2, which are frequent in Ashkenazi Jews, are involved in predisposition to hereditary breast cancer [4, 8]. The Jewish Ashkenazi population is prone to a series of genetic diseases, including cancer, blood disorders, biochemical disorders, amongst others, possibly due to a founder effect occurred in the last two millenniums [9, 10].

Material and Methods

The samples used in the present study consisted of 255 Ashkenazi Jewish women from the city of Porto Alegre, in the southern most state of Brazil. DNA was extracted from peripheral blood using a standard salt precipitation technique described by

Miller et al. [11]. The samples were kept in a DNA biobank at -20°C and were collected previously in a Jewish community festivity. At the same occasion, epidemiological data were also collected from the participants. Molecular analysis was performed by PCR of exons 2 and 20 for BRCA1 gene mutations and exon 11 for the BRCA2 mutation. All fragments were visualized by 1% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide. The identification of specific mutations was made using the ACRS (Amplification Created Restriction Site) technique according Rohlf's et al 1997 [12]. The restriction enzymes used were: DdeI (185delAG), BstNI (5382insC) and EcoRI (6174delT) (all from New England Biolabs). The digested fragments were visualized by 3% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide. The statistical analysis for the mutations frequencies were performed using the Stata v. 7.0 program.

Results and Discussion

Regarding BRCA1 results, we found frequencies of 0,78% (2/255; IC 95%: 0,10% - 2,8%) for 185delAG and for 5382insC we did not have any positive results for the molecular screening. For BRCA2, we found 0,4% (1/255; IC 95%: 2,45% - 8,08%) for mutation 6174delT. Comparative data regarding similar studies with Ashkenazi Jews throughout the world can be visualized in Table 1.

Epidemiological data from the participants of the present study have shown that from the three positive results for the mutations tested, all of them had familial cancer history and 2 presented a personal history of cancer. One of the women with a positive result for the 185delAG mutation, died due to breast cancer and several cases of different types of cancer were reported in her family members (twin sister, two brothers, aunt and maternal cousin). The positive case for 6174delT mutation presented personal history of ovarian cancer and familial history (paternal grandmother) of breast cancer.

Struwing et al. [13] have found 120 positive results for the common mutations described here. Of the 5318 participants tested for BRCA1, 41 presented the 185delAG mutation and 20 were positive for 5382insC. The tests for BRCA2 mutation involved 5087 participants and 59 presented the 6174delT mutation. Amongst the 120 mutation positive participants, 8,9% had personal history of breast or ovarian cancer and 3,8% had first degree relatives with breast or ovarian cancers. Nevertheless, the study shows that there could be an unequal penetrance depending

on the mutation found, sustaining the hypothesis of heterogeneity of allelic risk conferred by the different mutations [14].

Claus et al. [15] performed studies regarding the correlation between cancer and multiple factors which could be involved in its development. Among these factors are ethnic group, age of menarche and first pregnancy, familial inheritance, and others. These correlations were corroborated through statistical tests that showed a narrow relationship between the epidemiological data and breast cancer cases.

The etiology of familial breast cancer is complex and involves genetic and environmental factors such as hormones and way of life. To understand familial aggregation is the key to understand breast cancer causes and facilitate the development of effective prevention and therapy [16].

Several studies based on common BRCA1/2 mutations frequency estimative found a correlation between susceptibility/development of cancer and presence of these mutations. To analyze the genetic identity of populations prone to develop a series of diseases, such as the Ashkenazi Jews, and to identify a series of epidemiologic factors involved in the personal and familial history of these individuals is of great value for genetic counseling and for the future of new therapies which are searching for more individualized treatment for a better clinical response.

References

1. Claus E B, Risch N, Thompson W D (1991) Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet* 48:232–242.
2. Schubert E L, Lee M K, King M-C et al (1997) BRCA2 in American families with four or more cases of breast or ovarian cancer: recurrent and novel mutations, variable expression, penetrance, and the possibility of families whose cancer is not attributable to BRCA1 or BRCA2. *Am J Hum Genet* 60:1031–1040.
3. Easton D F, Ford D, Bishop D T (1995) Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 56:265–271.

4. Neuhausen S L, Mazoyer S, Goldgar D E et al (1996) Haplotype and phenotype analysis of six recurrent BRCA1 mutations in 61 families: results of an international study. *Am J Hum Genet* 58:271–280.
5. Roa B B, Boyd A A, Richards C S (1996) Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nat Genet* 14:185–187.
6. Levy-Lahad E, Catane R, Halle D et al (1997) Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jews in Israel: frequency and differential penetrance in ovarian cancer and in breast-ovarian cancer families. *Am J Hum Genet* 60:1059–1067.
7. King M-C, Marks J H, Mandell J B (2003) Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 302:643–646.
8. Offit K, Gilwesi T, Goldgar D et al (1996) Germline BRCA1 185delAG mutation in Jewish women with breast cancer. *Lancet* 347:1639–1943.
9. Goodman R M (1979) Genetic disorders among the Jewish people. Baltimore, Johns Hopkins University Press.
10. Risch N, Tang H, Ekstein J et al (2003) Geographic distribution of disease mutations in the Ashkenazi Jewish population supports genetic drift over selection. *Am J Hum Genet* 72:812-822.
11. Miller S A, Dykes D D, Polesky H F (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cell. *Nucleic Acids Res* 16:1215.
12. Rohlfs E M, Learning W G, Silverman L M et al (1997) Direct detection of mutations in the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 by PCR-mediated site-directed mutagenesis. *Clin Chemistry* 43(1): 24-29.
13. Struwing J P, Hartge P, Tucker M A et al (1997) The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 336:1401–1408.

14. Antoniou A, Pharoah P D P, Easton D F et al (2003) Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 72:1117-1130.
15. Claus E B, Schildkraut J, Parmigiani G et al (1998) Effect of BRCA1 and BRCA2 on the association between breast cancer risk and family history. *J of the Natl Cancer Inst* 90:1824-1829.
16. John E M, Hopper J L, Seminara D et al (2004) Breast Cancer Family Registry: The Breast Cancer Family Registry: an infrastructure for cooperative multinational, interdisciplinary and translational studies of the genetic epidemiology of breast cancer. *Breast Cancer Res* 6:375-389.
17. Abeliovich D, Kaduri L, Peretz T et al (1997) The founder mutations 185delAG and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women. *Am J Hum Genet* 60:505-514.
18. Bahar A Y, Taylor P J, Buckley M F et al (2001) The frequency of founder mutations in the BRCA1, BRCA2, and APC genes in Australian Ashkenazi Jews: implications for the generality of U.S. population data. *Cancer* 92:440–445.
19. Chetrit A, Hirsh-Yechezkel G, Sadetzki S (2008) Effect of BRCA1/2 mutations on long-term survival of patients with invasive ovarian cancer: The national Israeli study of ovarian cancer. *J Clin Oncol* 26:20-25.
20. Fodor FH, Weston A, Eng CM et al (1998) Frequency and carrier risk associated with common BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish breast cancer patients. *Am J Hum Genet* 63:45-51.
21. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Robinson E et al (1999) BRCA1 and BRCA2 founder mutations in patients with bilateral breast cancer. *Eur J Hum Genet* 7:833–836.

22. Hodgson S V, Heap E, Lewis C M et al (1999) Risk factors for detecting germline BRCA1 and BRCA2 founder mutations in Ashkenazi Jewish women with breast or ovarian cancer. *J Med Genet* 36:369–373.
23. Kadouri L, Temper M, Lotem M et al (2009) Absence of founder BRCA1 and BRCA2 mutations in coetaneous malignant melanoma patients of Ashkenazi origin. *Fam Cancer* 8:29–32.
24. Kirchhoff T, Satagopan J M, Offit K et al (2004) Frequency of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Unselected Ashkenazi Jewish Patients With Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst* 96:68-70.
25. Moslehi R, Chu W, Narod S A et al (2000) BRCA1 and BRCA2 mutation analysis of 208 Ashkenazi Jewish women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 66:1259–1272.
26. Satagopan J M, Boyd J, Offit K et al (2002) Ovarian Cancer Risk in Ashkenazi Jewish Carriers of BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Clin Cancer Res* 8:3776–3781.
27. Warner E, Goodwin P, Narod S et al (1999) Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected Ashkenazi Jewish women with breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 91:1241–1247.

Table 1. Frequency of common mutations in BRCA1/2 in Ashkenazi Jews described in several populations worldwide.

F 185delAG (%)	F 5382insC (%)	F 6174delT (%)	N	<i>Reference</i>
0,78	0	0,4	255	Present study
6,7	2,2	4,5	199	[17]
1,25	0,25	1,08	1.200	[18]
23,3	3,0	8,9	605	[19]
1,05	0,12	1,05	1.715	[20]
1,09	0,13	1,52	51	[21]
7,0	1,6	5,9	184	[22]
0	0	0	92	[23]
4,2	2,5	3,7	1008	[7]
0,34	0,17	0,51	586	[24]
20,7	6,7	13,9	208	[25]
17,4	6,2	10,1	436	[26]
0,77	0,37	-	5318 ^a	[13]
-	-	1,16	5087 ^b	
6,3	1,9	3,6	412	[27]

^a : Number of patients tested for BRCA1 (185delAG and 5382insC)

^b : Number of patients tested for BRCA2 (6174delT)