

Análise dos Polimorfismos dos Genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* em Amostra de Pacientes com Carcinoma Colorretal do sul do Brasil

*Analysis of the Polymorphic Genes *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* in a Sample of Colorectal Cancer Patients from the South of Brazil*

Ansolin PA¹, Alexandre COP^{1,2}, Damin DC³.

Laboratório de Biologia Molecular da Pós-graduação, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA).

Resumo

As glutationas S-Transferases *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* são enzimas da segunda fase de biotransformação que atuam na detoxificação de uma ampla variedade de agentes exógenos incluindo os carcinógenos. Os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* são polimórficos em humanos e suas variantes têm sido associadas, em algumas populações, ao aumento dos riscos de neoplasia, entre elas o carcinoma colorretal. Neste estudo caso-controle, analisamos os polimorfismos nos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* por PCR multiplex e RFLP, em biópsias de carcinoma colorretal (CCR) obtidas de pacientes do Rio Grande do Sul. Não houve associação entre a presença do polimorfismo nos genes *GSTM1*, (0/0), *GSTT1* (0/0) e *GSTP1* (Ile/Val; Val/Val) e o aumento no desenvolvimento de Câncer colorretal (OR=1,94 IC: 0,86-4,3), (OR=1,0 IC=0,40-2,4) e (OR=0,69 IC: 0,3-1,6; OR=0,58 IC: 0,16-2,0) respectivamente. Nossos resultados não confirmam a ocorrência de associação específica entre os polimorfismos *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* analisados de modo independente como em conjunto, com o desenvolvimento do carcinoma colorretal numa amostra da população do Rio Grande do Sul.

Unitermos

GSTs, câncer colorretal, polimorfismo, susceptibilidade genética.

Abstract

The glutathione S-Transferases *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* are enzymes of the second phase II of cell-metabolism which work in the detoxification pathways of a wide range of exogenous agents including carcinogens. The *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* genes are polymorphic in humans and their variants have been related in some populations with an increased risk for neoplasia, including colorectal cancer. In this case-control study, we analysed the polymorphisms present in *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* by multiplex PCR and RFLP, in biopsies of colorectal cancer obtained from patients in South of Brazil. There was no association between the *GSTM1*, (0/0), *GSTT1* (0/0) and *GSTP1* (Ile/Val; Val/Val) polymorphisms and an increase in the colorectal cancer development (OR=1,94 IC: 0,86-4,3), (OR=1,0 IC=0,40-2,4) and (OR=0,69 IC: 0,3-1,6; OR=0,58 IC:0,16-2,0) respectively. Our results did not support an involvement of these specific *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* genes polymorphisms, either independently or in combination, in susceptibility to CCR in the tested South Brazilian population.

Key Words

GSTs, colorectal cancer, polymorphism, genetic susceptibility.

INTRODUÇÃO

As neoplasias no cólon e no reto são responsáveis por uma grande mortalidade em todo o mundo, constituindo a terceira causa de morte por câncer e a segunda em países desenvolvidos²¹. Estudos epidemiológicos sugerem que até 80% dos cânceres humanos surgem como consequência da exposição ambiental¹². A variabilidade

¹ Poliana L. Ansolin - Laboratório de Biologia Molecular da Pós-graduação, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA). Apoio Financeiro: CAPES.

² Cláudio O. P. Alexandre - Laboratório de Biologia Molecular da Pós-graduação, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA). Apoio Financeiro: CAPES. Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Univ. Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre UFCSA. Porto Alegre, 90050-170, RS, Brasil. Email: calex@ufcsa.edu.br.

³ Daniel C. Damin - Divisão de Coloproctologia, Departamento de Cirurgia, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

dos comportamentos clínicos e biológicos do carcinoma colorretal (CCR) tem suscitado grande interesse, visando o estudo de fatores que possam estar associados à progressão da neoplasia. A evolução das células epiteliais normais para adenoma benigno e carcinoma envolve múltiplas etapas com alterações histológicas e mudanças genéticas¹³.

Segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA). A incidência deste carcinoma estimada para o Brasil em 2008 foi de 12.490 casos em homens e de 14.500 em mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 13 novos casos a cada 100 mil homens e 15 para cada 100 mil mulheres. Em relação à mortalidade, no Brasil, este tipo de neoplasia situa-se na quinta posição entre as causas de óbitos mais frequentes para ambos os sexos. De acordo com o Ministério da Saúde (2003), este tumor é responsável por 13,4% da mortalidade para todas as idades e 21% para a faixa entre 60 e 64 anos. É importante salientar que todas as regiões do Brasil apresentaram tendência de aumento das taxas de mortalidade durante o período de 1979 a 2005 (DATASUS – Ministério da Saúde, 2003).

A estimativa de risco nas populações para CCR podem ser classificadas em: (1) população de baixo risco: pacientes com idade superior a 50 anos e sem outros fatores de risco para CCR; (2) população de risco moderado: pacientes com história familiar de CCR em um ou mais parentes de primeiro grau, história pessoal de pólipos maior do que 1 cm ou múltiplos pólipos de qualquer tamanho e os indivíduos com antecedente pessoal de CCR tratado com intenção curativa; e (3) população de alto risco: indivíduos com história familiar de CCR hereditário na forma de PAF (polipose adenomatosa familiar) ou HNPCC (câncer colorretal hereditário sem polipose), ou com diagnóstico de doença inflamatória intestinal na forma de pancolite ou colite esquerda. Desta forma, a alta incidência do CCR e a diferença nos resultados do tratamento, de acordo com o estágio da doença, justificam os esforços para detecção precoce e de seu rastreamento em populações consideradas de risco para a doença²⁸.

Os biomarcadores moleculares precoces da carcinogênese fornecem informações diagnósticas associada com o desenvolvimento do câncer antes mesmo do aparecimento do tumor e até mesmo dos pólipos. A expressão de um biomarcador para ser utilizado no diagnóstico precoce de câncer deve ser diferentemente expressa em condições normais, pré-malignas e malignas, entretanto, atualmente poucos são os biomarcadores que mostram um diferencial padrão de expressão. Vários biomarcadores têm sido proposto na carcinogênese do CCR entre eles destacam-se a família GSTs por atuarem no início da etapa de carcinogênese, impedindo a acumulação de danos no DNA através da detoxificação dos compostos carcinogênicos citados anteriormente, evitando desta maneira

a indução de mutações em protooncogenes, genes supressores tumorais e possivelmente genes que regulam a apoptose. Existem ainda outros biomarcadores, um muito utilizado é a mutação do gene APC, mas, ao contrário da GSTs, quando detectado indica que a célula colorretal está em progressão maligna. Assim, cada vez mais vem se dando importância para estudos que visem genes que possam servir como biomarcadores nas etapas precoces da carcinogênese¹⁵.

Vários genes polimórficos que codificam enzimas envolvidas na biotransformação de carcinógenos têm sido associados ao desenvolvimento do câncer²⁴. Três genes em particular, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* que codificam enzimas da fase II pertencentes à família da glutathione S-transferase (GSTs), parecem relevantes para a suscetibilidade ao câncer^{27, 29, 31 e 36}, pois atuam na detoxificação de metabólitos reativos de substâncias carcinogênicas presentes no ambiente. Além dos polimorfismos herdados nas GSTs, os indivíduos podem diferir na atividade da enzima por causa da exposição diferencial aos compostos bioativos.¹⁰ A carcinogênese química é a transformação neoplásica produzida por substâncias químicas e pode ser dividido em dois estágios: A iniciação refere-se à indução de determinada alteração irreversível (mutações) no genoma das células. As células iniciadas não são células transformadas; não possuem autonomia para seu crescimento. Todavia, ao contrário das células normais, dão origem a tumores quando apropriadamente estimuladas com agentes promotores. A segunda etapa é a promoção e refere-se ao processo de indução de um tumor em células previamente iniciadas por substâncias químicas denominadas promotores. Os promotores não afetam o DNA e não são tumorogênicos³².

Os genes, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* são polimórficos na população humana⁶. Indivíduos portadores da deleção do alelo *GSTM1* e/ou do *GSTT1* em homozigose podem apresentar suscetibilidade para desenvolver alguns tipos de neoplasias, principalmente os tumores etiológicamente relacionados aos modos e hábitos de vida devido à redução nos processos de detoxificação¹⁴. O polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP) do gene *GSTP1* é caracterizado pela transição de adenina (A) para guanina (G), resultando a substituição na substituição Isoleucina → Valina (códon 105). Essa substituição não-sinônima resulta em uma alteração da atividade catalítica do produto do gene *GSTP1*. Devido ao fato da mudança do aminoácido ocorrer perto do sítio de ligação hidrofóbico de eletrófilos tanto o genótipo homozigoto (*GSTP1* Ile/Ile) e heterozigoto (*GSTP1* Ile/Val) podem resultar em uma diminuição específica da atividade e afinidade por compostos eletrofílicos, podendo ser um fator de risco para o desenvolvimento de neoplasias^{20,35}. O presente estudo teve como objetivo investigar a relação entre a presença dos polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* e o desenvolvimento

de carcinoma colorretal em uma amostra de pacientes do Rio Grande do Sul.

MÉTODOS

Este é um estudo caso-controle, realizado na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA). A amostra foi constituída por 50 biópsias de pacientes com carcinoma colorretal, obtidas no período de 2003 a 2005 junto ao Serviço de Coloproctologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), sendo que dessas, 43,3% eram pertencentes do sexo masculino com média de idade entre (65,2 ±13,2 anos). Foram incluídas somente as biópsias com diagnóstico confirmado de carcinoma colorretal por meio da análise anatomopatológica. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em formalina 10% e, logo após, congeladas à - 20°C. O grupo controle foi constituído por amostras de sangue periférico de indivíduos sem história prévia ou atual de neoplasia, sendo 56,7% eram pertencentes do sexo masculino com média de idade entre (51,0±6,8 anos). Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFCSA (CEP-UFCSA) e todos os pacientes envolvidos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

O DNA genômico foi extraído dos tecidos utilizando o kit de extração "PureLink™ Genomic DNA Mini Kit" (Invitrogen®) de acordo com o procedimento descrito pelo fabricante (*Manual Kit Invitrogen*). O DNA genômico das amostras foi amplificado utilizando-se *primers* específicos para os genes *GSTM1* (5' GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C 3' e 5' GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G3')⁵ *GSTT1* (5'TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC 3' e 5'TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA 3')³⁰ e *GSTP1* (5' ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA 3' e 5'TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT 3')¹⁹. A análise dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram realizadas simultaneamente pela reação multiplex em cadeia da polimerase (PCR)¹⁶ com algumas modificações. Cada reação consistiu em uma mistura contendo 100ng de DNA, 5uL de 10 x Tampão de PCR (10 x 500mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 9,0), 15pmol de cada um dos primers específicos, 0,3mM dNTPs e 1U de Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen®) em um volume total de 50µL. A análise do polimorfismo do gene *GSTP1* foi feita pela técnica PCR-RFLP¹⁹. Os produtos de amplificação foram analisados em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo (10mg/ml) e visualizados sob luz ultravioleta. A presença ou a ausência dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foi detectada pela presença ou ausência de uma banda de 215 pb e uma banda 480 pb respectivamente. O gene *GSTP1* serviu como controle interno de amplificação, apresentando uma banda de 176pb, visto que o tipo de polimorfismo em ambos os genes analisados (*GSTM1* e *GSTT1*) é do tipo deleção.

Para a análise estatística das frequências dos genótipos obtidos, utilizou-se o teste Qui-quadrado de *Pearson*, com nível de significância de 5%. Foram calculados também Odds ratios (OR) e o intervalo de confiança foi de IC=95%. Os dados foram analisados com auxílio dos programas SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences Program for Windows-versão 13*).

RESULTADOS

Nossos resultados não mostraram associação entre os genótipos *GSTM1* (0/0) nulo (OR=1,94 IC: 0,86-4,3); *GSTP1* (Ile/Val e Val/Val) (OR=0,69 IC:0,3-1,6 e OR=0,58 IC:0,16-2,0) e *GSTT1* (0/0) nulo (OR=1,0 IC=0,40-2,4) e o desenvolvimento de carcinoma colorretal (Tabela 1). Foram observadas frequências similares para esses genótipos (34% e 50% para *GSTM1* (0/0), (26% e 26% para *GSTT1* (0/0), (36% e 42% para *GSTP1* Ile/Val) e (10% e 14% para *GSTP1* Val/Val) entre casos e controles respectivamente. Quando foi realizada a combinação genotípica para *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* verificamos que o risco de CCR não aumentou significativamente na presença da combinação dos genótipos *GSTM1* (0/0), *GSTT1* (0/0) e *GSTP1* Ile/Val ou *GSTP1* Val/Val (p=0,57) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O papel do polimorfismo das principais isoenzimas da GSTs no carcinoma colorretal foi investigado em um delineamento longitudinal do tipo caso-controle. Estudos caso-controles anteriores realizados no carcinoma colorretal na investigação dos polimorfismos *GSTM1*, *GSTP1* e *GSTT1* apresentaram resultados contraditórios. Vários autores demonstraram uma associação com o genótipo nulo *GSTM1*(0/0)^{25, 34 e 37}, e o aumento do risco de desenvolvimento do carcinoma colorretal enquanto outros não^{7, 11 e 18}. Para o genótipo nulo *GSTT1* (0/0) também foi demonstrada uma relação em alguns estudos^{7 e 11} e ausência da mesma em outros^{9, 18, 23 e 25}. A combinação destes genótipos nulos *GSTM1* (0/0) /*GSTT1* (0/0) também foi investigada quanto ao aumento da predisposição do CCR. Foi observado ser mais comum em indivíduos saudáveis quando comparado aos com câncer colorretal⁹. Entretanto, o risco aumentado para este tipo de carcinoma também já foi observado em indivíduos portadores da combinação genótipo nulo desses genes^{3 e 26}.

Com relação ao gene *GSTP1*⁸, Chen K *et al* (2005)⁸ não encontraram nenhuma associação significativa com o polimorfismo Ile105→Val e o risco do desenvolvimento deste tumor. Por outro lado, Ates AN *et al* (2005)³ demonstram que o risco de CCR aumenta significativamente na presença da combinação dos genótipos *GSTM1* (0/0), *GSTT1* (0/0) e *GSTP1* Ile/Val ou *GSTP1* Val/Val (OR =2,69 95% CI: 1,02-7,11).

Neste estudo não foi possível estabelecer uma associação entre os genótipos nulos *GSTT1*, *GSTM1* e *GSTP1* (Ile/Val e Val/Val), separados ou combinados e o desenvolvimento do câncer colorretal. Esses resultados podem ter sido influenciados pelo número reduzido de biópsias analisadas e/ou pelo fato de não haver pareamento entre casos e controles com relação à idade. Entre os indivíduos com carcinoma colorretal a média etária foi de $65,2 \pm 13,2$ anos, quando entre os indivíduos controles foi de $51,0 \pm 6,8$ anos ($p=0,001$). Esse fato deve ser considerado importante, visto que, a idade de início de rastreamento para CCR na população de baixo risco é iniciada acima dos 50 anos, portanto, poderia existir nesse estudo indivíduos que compõem os casos que ainda não foram diagnosticados para CCR. Além disso, é importante ressaltar que os casos e controles não foram agrupados no que se referem ao grupo étnico, alguns trabalhos mostraram diferenças significativas na frequência do polimorfismo do gene *GSTM1* (0/0) entre Afro-Brasileiros e brasileiros com descendência européia^{2, 33, 17 e 22}. Ainda Rossini *et al.*, (2002) constataram que o genótipo *GSTP1* (Val/Val) é mais freqüente em indivíduos etnicamente brancos do que em indivíduos não brancos. Entretanto, a freqüência dos genótipos nulos *GSTM1* e *GSTT1* para amostras afro-brasileiras de Porto Alegre foi semelhante à aquelas descritas para outras po-

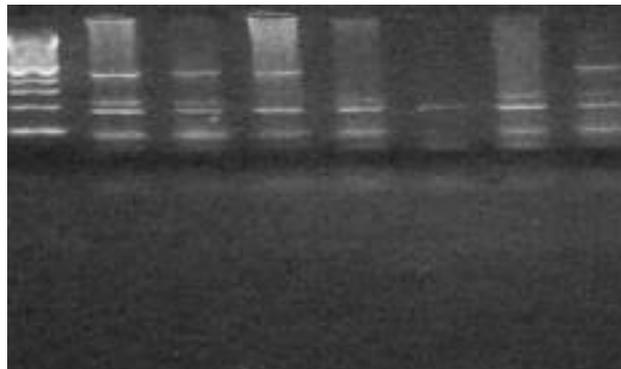


Figura 1 . PCR Multiplex analisado em gel de agarose 3%. Canaleta1, marcador de peso molecular de 100pb; canaleta 2, 3 e 8, indivíduo sem deleção *GSTM1* (+) /*GSTT1* (+); canaleta 4, indivíduo com deleção do *GSTM1* (0/0); canaleta 5 e 7, indivíduo com deleção *GSTT1* (0/0); canaleta 6, indivíduo com deleção *GSTM1* (0/0) /*GSTT1* (0/0).

pulações afro-brasileiras^{2 e 17}, as quais são semelhantes às freqüência descritas para outras populações afro-descendentes não brasileiras.^{4 e 19}.

CONCLUSÃO

Em nosso estudo não foi possível estabelecer a influência dos polimorfismos dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*

Tabela 1

Estimativa de odds ratio (OR) para os polimorfismos investigados nos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* e o desenvolvimento de Carcinoma Colorretal

| Genótipo (n=50) | Casos(Tumor) (n=50) | Controle | OR | IC(95%) |
|----------------------|---------------------|----------|------|----------|
| <i>GSTM1</i> (+) | 33 | 25 | 1,94 | 0,86-4,3 |
| <i>GSTM1</i> (-) | 17 | 25 | | |
| <i>GSTT1</i> (+) | 37 | 37 | | |
| <i>GSTT1</i> (-) | 13 | 13 | 1,00 | 0,40-2,4 |
| <i>GSTP1</i> Ile/Ile | 27 | 22 | 1,00 | |
| <i>GSTP1</i> Ile/Val | 18 | 21 | 0,69 | 0,3-1,6 |
| <i>GSTP1</i> Val/Val | 5 | 7 | 0,58 | 0,16-2,0 |

*Genótipos nulo(-) e não nulo(+)

Tabela 2

Distribuição da combinação genotípica para os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* em indivíduos com carcinoma colorretal e controles utilizando o teste Qui-quadrado

| Genótipo <i>GSTM1</i> <i>GSTT1</i> <i>GSTP1</i> | Casos(Tumor) (n=50) | Controle (n=50) | P |
|--------------------------------------------------------|---------------------|-----------------|------|
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Ile/Ile | 16(32%) | 11(22%) | |
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Ile/Ile | 3(6%) | 1(2%) | |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Ile/Ile | 5(10%) | 6(12%) | |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Ile/Ile | 3(6%) | 4(8%) | |
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Ile/Val | 9(18%) | 4(8%) | |
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Ile/Val | 2(4%) | 5(10%) | 0,57 |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Ile/Val | 5(10%) | 10(20%) | |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Ile/Val | 2(4%) | 2(4%) | |
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Val/Val | 2(4%) | 3(6%) | |
| <i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Val/Val | 1(2%) | 1(2%) | |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (+) <i>GSTP1</i> Val/Val | 0(0%) | 2(4%) | |
| <i>GSTM1</i> (-) <i>GSTT1</i> (-) <i>GSTP1</i> Val/Val | 2(4%) | 1(2%) | |

*Genótipos nulo(-) e não nulo(+)

na carcinogênese colorretal. Desta forma, o papel do polimorfismo destas isoenzimas ainda é controverso no que se refere à sua importância como fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma colorretal, reforçando a necessidade de estudos adicionais para o possível uso destes genes como biomarcador para o prognóstico do câncer colorretal.

Conflito de interesses: Nada a declarar.

REFERÊNCIAS

- Ali-Osman, F., Akande, O., Antoun, G., Mao, J. X., and Buolamwini, J. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272:10004–100012.
- Amorim LMFA, Rossini A, Mendonça GAS, Lotsch PF, Simão TA, Gallo CVM and Pinto LFR CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms and breast cancer risk in Brazilian women. *Cancer Lett* , 2002; 181:179-186.
- Ates AN, Tamer L, Ates C, Ercan Bahadır, et al. Glutathione s-transferase M1, T1, P1 genotypes and risk for development of colorectal cancer. *Biochemical Genetics*, April 2005; 43: (3/4).
- Bailey LR, Roodi N, Verrier CS, Yee CJ, Dupont WD and Parl FF. Breast cancer and CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. *Cancer Res* , 1998; 58:65-70.
- Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, et al. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of carcinogen metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1993; 85:1159-1164.
- Board P, Coggan M., Johnston P, Ross V., et al. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases a complex of gene families. *Pharmacology and Therapeutics*, 1990; 48: 357–369.
- Butler, W. J., Ryan, P., and Roberts-Thomson, I. C. .Metabolic genotypes and risk for colorectal cancer increased risk in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Gastroenterology*, 1997; 112:542.
- Chen K, Jiang QT, He HQ. Relationship between metabolic enzyme polymorphism and colorectal cancer, *World J Gastroenterol*, 2005; 11:331–5.
- Chenevix-Trench, G., Young, J., Coggan, M. and Board, P. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms: susceptibility to colon cancer and age of onset, *Carcinogenesis*, 1995; 16:1655-1657.
- Cotton SC, Sharp L, Little J, Brockton N. Human Genome Epidemiology (HuGE) Reviews – Glutathione S-transferase Polymorphisms and colorectal cancer: A HuGE Review. *American Journal of Epidemiology*, 2000; 51(1):7-32.
- Deakin M, Elder J, Hendrickse C. Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. *Carcinogenesis*, 1996; 17:881-4.
- Doll R. The causes of cancers: Quantitative estimates of avoidable risks of cancers in the United States today, *J. Natl. Cancer Inst*, 1981; 66: 1191-1308.
- Fearon E.R., Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990; 61: 759–767.
- Garcia-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, et al. NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet*, 2005; 366:649–59.
- G. Garcea, R.A. Sharma, A. Dennison, W.P. Steward, A. Gescher, D.P. Berry. Molecular biomarkers of colorectal carcinogenesis and their role in surveillance and early intervention. *European Journal of Cancer*, 2003; 39:1041–1052.
- Gaspar PA, Moreira J, Kvitko K, Torres MR, et al. CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and TP53 polymorphisms: Do they indicate susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease and non-small-cell lung cancer? *Genet Mol Biol*, 2004; 27:133-138.
- Gattás GJF, Kato M, Soares-Vieira JA, Siraque MS, Kohler P, Gomes L, Rego MAV and Bydlowski SP Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. *Braz J Med Biol Res*, 2004; 37:451-458.
- Gerting D.M., Stampfer M., Haiman C., Hennkens C.H., et al. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and colorectal cancer risk. A prospective study, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998; 7: 1001±1005.
- Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard G.C, et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis*, 1997; 18:641–644.
- Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005; 45: 51–88.
- INCA Instituto Nacional do Câncer Ministério da Saúde. (Brasil) <http://www.inca.gov.br/Estimativa/2008/> Acesso setembro de 2008.
- Kátia Kvitko, Pedro de Abreu Gaspar, Martiela Ribeiro Torres and Mara H. Hutz. CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms in an Afro-Brazilian group. *Genetics and Molecular Biology*, 2006; 29, 4, 613-616.
- Katoh T, Nagata N, Kuroda Y et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. *Carcinogenesis*, 1996; 17: 1855-9.
- Lear J.Y., Heagerty A.H.M., Smith A., Bowers B., Payne C., Smith C.A.D., Jones P.W., Gilford J., Yengi L., Aldersea J., Fryer A., Strange R.C. Multiple cutaneous basal cell carcinomas: glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTT1) and cytochrome P450 (CYP2D6, CYP1A1) polymorphisms influence tumour numbers and accrual. *Carcinogenesis*, 1996; 12: 1891-1896.
- Lee E, Huang Y, Zhao B et al. Genetic polymorphism of conjugating enzymes and cancer risk: GSTM1, GSTT1, NAT1 and NAT2. *J Toxicol Sci*, 1998; 23:140-2.
- Martinez JC, Zilberstein B, Sallum RAA, Eshkenazy R. Neoplasia da cárdia. In: Gama-Rodrigues JJ, Del Grande JC editors. *Tratado de Clínica Cirúrgica do Sistema Digestório*. São Paulo: Atheneu; 2006.
- Miller PD, Liu G, De Vivo I, Lynch TJ, Wain JC, Su L and Christiani DC Combination of the variant genotype of GSTP1, GSTM1 and p53 are associated with an increased lung cancer risk. *Cancer Res*, 2002; 62:2819-2823.
- Neves FJ, Mattos IE, Koifman RJ. Mortalidade por câncer de cólon e reto nas capitais brasileiras no período 1980-1977. *Arq Gastroenterol* 2005; 42: 63-70.
- Norppa H. Genetic susceptibility, biomarkers response, and cancer. *Mutat Res*, 2003; 544:339-348.
- Pemble S.E., Schroeder K., Spencer S., Meyer D., Hallier. Human glutathione S-Transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.* 1994; 300, 271-276.
- Perera FP and Weinstein IB. Molecular epidemiology: Recent advances and future directions. *Carcinogenesis*, 2000; 21:517-524.
- Robbins SL, Conran RS, Kumar V. *Patologia Estrutural e Funcional*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- Rossini A, Rapozo DCM, Amorim LMF, Macedo JMB,

- Medina R, Neto JFN, GalloCVMand Pinto LRF. Frequencies of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms in a Brazilian population. *Genet Mol Res*, 2002; 1:233-240.
34. Strange R.C, Matharoo B., Faulder G. C., Jones P., et al. The human glutathione S-transferases: A case-control study of the incidence of the GST1 0phenotype in patients with adenocarcinoma. *Carcinogenesis*, 1991; 12:25–28.
 35. Watson MA, Stewart RK, Smith GB, Massey TE, et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 1998; 19: 275-80.
 36. Wilkinson J., Clapper M. L. Detoxification enzymes and chemoprevention. *Proceeding Society Experimental Biological Medicine*, 1997; 216: 192-200.
 37. Zhong S et al. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis*, 1993a; 14: 1821- 1824.

Submetido em 17/03/2010.

Aprovado para publicação em 29/06/2010.