

ANÁLISE DA SUSCETIBILIDADE ALÉLICA DO GENE *GSTP1* EM PACIENTES COM CARNINOMA ESPINOCELULAR DE LARINGE*

ANDRÉIA PIRES AMÂNCIO, **DANILO CONRADO SILVA**,
CAROLINE OLIVEIRA DE ARAUJO MELO, **RAIMUNDO LIMA
SILVA JÚNIOR**, MARIA PAULA CURADO, **ANGELA ADAMSKI
DA SILVA REIS**, APARECIDO DIVINO DA CRUZ

*Resumo: o polimorfismo do gene de codificação enzimática na fase de detoxificação de agentes carcinogênicos pode alterar a eficiência do biometabolismo de agentes potencialmente genotóxicos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o polimorfismo do gene *GSTP1* no estudo caso-controle para se avaliar a suscetibilidade dos pacientes diagnosticados com CEC de laringe pelo SCP/ HAJ*

*Palavras-chave: Polimorfismo. *GSTP1*. Câncer de laringe. PCR-RFLP e estudo caso- controle.*

O carcinoma espinocelular (CEC) da laringe é um dos mais frequentes tumores de cabeça e pescoço, totalizando 25% dos casos de câncer no Brasil e também o segundo tumor maligno mais frequente do trato aerodigestivo superior (CAMPONÊS DO BRASIL; MANRIQUE, 2004). O CEC da laringe é altamente metastatizante e é muito propenso a se espalhar por via linfática, o que promove uma recorrência loco-regional (JEONG et al. 2006). Provoca importantes modificações no órgão, tanto pela sua presença como por procedimentos cirúrgicos terapêuticos que modificam, restringem ou eliminam a capacidade individual de emitir a voz falada (MANFRO *et al.*, 2005).

No Brasil, foi registrado por ano o equivalente a 6.600 casos de câncer de laringe, o que representa 5% de todos os tipos de câncer, causando em média 3.500 mortes anuais. Os casos de câncer de laringe acometem, principalmente, pacientes com idade entre 50 e 70 anos, com idade média de 54,6 anos, pre-

dominantemente do sexo masculino (CAMPONÊS DO BRASIL, MANRIQUE, 2004; BISELLI *et al.*, 2006).

Dados registrados pela Associação de Combate ao Câncer em Goiás (2004) indicam que, em Goiânia - GO, o câncer de laringe é mais frequente em homens que em mulheres, devido aos hábitos de tabagismo e etilismo serem predominantes no sexo masculino, sendo estes fatores os que mais contribuem para este tipo de carcinoma. No entanto, as taxas de mortalidade, tanto para homens como para mulheres apresentaram-se menores em Goiânia (GO) de 1,76 e 0,67 por 100.000 habitantes, quando comparadas com as taxas de mortalidade mundiais de 3,9 e 0,7 por 100.000 habitantes, respectivamente para homens e mulheres (AMÂNCIO, 2010).

Segundo Guerra *et al.* (2005), vários fatores de risco potencializam o surgimento de tumores de laringe e podem ser subdivididos em dois grandes grupos: fatores exógenos (tabagismo, etilismo, agentes virais, hábitos nutricionais e exposições ocupacionais) e fatores endógenos (sexo, idade, raça e fatores genéticos).

O tabaco contém uma complexa mistura química que inclui hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), nitrosaminas, aldeídos e aminas aromáticas, que são capazes de induzir mutações no genoma (ACAR *et al.*, 2006; BISELLI *et al.*, 2006). Os níveis destes produtos eletrofílicos que são lançados na circulação sanguínea estão intimamente relacionados com a ação das enzimas do biometabolismo, que são respectivamente responsáveis pela ativação dos compostos na fase I (Citocromo P450) e detoxificação (Glutathione S-Transferases) destes mesmos compostos químicos na fase II (GOLONI-BERTOLLO *et al.*, 2006).

A função primária as enzimas da família Glutathione S-Transferase (GST) é promover a detoxificação dos eletrólitos capazes de se ligar ao DNA, outro papel importante desempenhado por estas enzimas consiste na proteção de tecidos do stress oxidativo, combatendo aos radicais livres (PETERS *et al.*, 2006; MACIEL, 2007). O gene GSTP1 está localizado no cromossomo 11q13, e está envolvido na detoxificação de componentes eletrofílicos por conjugação da glutathione, como outros membros da família GST.

Dois polimorfismos genéticos têm sido descrito em GSTP1, no éxon 5 e éxon 6, ambos resultam em substituições de aminoácidos na proteína. No entanto, apenas a mudança no éxon 5 está ligada à atividade enzimática. Essa mudança genética resulta no polimorfismo no códon 105, em que a mudança de adenina para guanina (A/G), na sequência de DNA codante resulta em uma substituição de um resíduo de isoleucina por valina (Ile/Val) no produto final da proteína (SOYA, 2007). Neste sentido, os indivíduos que carregam alelos menos eficientes das enzimas de detoxificação, como o polimorfismo A/G no éxon5 de GSTP1, apresentam um maior risco para desenvolver câncer (AMÂNCIO, 2010; REIS, 2010).

O objetivo geral do presente estudo foi estabelecer os aspectos clínico- epidemiológicos e o perfil alélico do gene GSTP1 em grupos de casos e controle para investigar a suscetibilidade genética de pacientes diagnosticados com carcinoma espinocelular da laringe (CEC) no Serviço de Cabeça e Pescoço do Hospital Araújo Jorge (SCP-HAJ) da Associação de Combate ao Câncer em Goiás nos anos de 1998 a 2003 em associação com o Núcleo de Pesquisas Replicon do Departamento de Biologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), sendo executado nos anos de 2009 e 2010.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi conduzido um estudo caso-controle, o qual foi obtido o parecer favorável do Comitê de Ética da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEP/ACCG). No total, foram avaliadas 100 amostras, sendo 50 pacientes diagnosticados com carcinoma espinocelular da laringe (CEC), obtidos junto ao SCP-HAJ e 50 controles, de indivíduos sem nenhuma suspeita de câncer nas vias aerodigestivas superiores. A adesão e a participação individual no estudo foram voluntárias, tendo como critério de inclusão a idade mínima de 15 anos.

Foram considerados casos, somente os indivíduos diagnosticados com tumores primários de laringe, definidos através do Código Internacional de Doenças Oncológicas (CID-O). O diagnóstico incluiu várias topografias possíveis para os tumores da laringe que foram histologicamente confirmados pelo Serviço de Patologia do HAJ. Esses casos não passaram por nenhuma terapia primária, nem foram previamente tratados com radio e/ou quimioterapia local ou sistêmica. Ou seja virgens de tratamento.

Os indivíduos dos grupos casos e controle foram entrevistados, a respeito da história individual de exposição tanto a fatores ocupacionais como também com relação a fatores ambientais, hábitos de vida, e ainda informações biométricas. A adesão ao estudo foi feito mediante assinatura de um Termo Consubstanciado Livre e Esclarecido (TCEE).

Para a obtenção das amostras, de casos e controles, foram coletados 5mL de sangue periférico em seringas heparinizadas. Posteriormente, essas amostras foram processadas a 5.000 rpm por 15 minutos. Em seguida alíquotas foram armazenadas em criotubos, fracionadas em anel leucocitário, hemácias, e plasma. As alíquotas foram devidamente rotuladas, e armazenadas em freezer a -80°C.

A extração e purificação de DNA total das amostras obtidas foram executadas com o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purifications Kit (Promega Corporation,

EUA), de acordo com o protocolo de extração sugerido pelo fabricante. As amostras extraídas foram rotuladas e armazenadas no freezer a -20°C para que fossem utilizadas posteriormente nas Reações em Cadeia da Polimerase (PCR).

As 100 amostras foram submetidas à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional utilizando-se um volume final de 25µL. Os componentes da reação incluíam água Mili-Q, 0,15 nmol de cada “primer” alelo-específico (Tabela 1), 1U de Taq DNA polimerase, 1X de tampão STR (Promega®) (50 mM de KCl, 10mM de Tris- HCl, 1,5mM MgCl₂, 0,1% Triton X-100, 0,2mM dNTPs e 0,5mM de MgCl₂) e aproximadamente 100ng de DNA genômico total.

Tabela 1: Características gerais do conjunto de “primers” utilizado para a avaliação do polimorfismo do gene *GSTP1* em casos de carcinoma espinocelular da Laringe, e seus controles, obtidos da população de Goiânia, no período de 1998 a 2003

Gene	Sequência dos primers	Polimorfismo	Tamanho do Amplicon	Referência
<i>GSTP1</i>	F: ACCCCAGGGCTCTATGGGAA R: TGAGGGCACAAGAAGCCCCT	A / G	176pb	HARRIES <i>et al.</i> 1997

Legenda: pb: pares de base.

Para a amplificação do fragmento de 176pb do gene *GSTP1* foi utilizado o protocolo de termociclagem sugerido por Abdel-Rahma *et al.* (1996), com adaptações. Posteriormente, os produtos de PCR foram analisados em gel de Agarose a 1,5% e corados em solução com Brometo de Etídio (EtBr) para análise da amplificação. O fragmento de 176 pb foi observado para todos os casos e controles.

Para a genotipagem dos alelos do gene *GSTP1*, os fragmentos amplificados de 176 pb foram submetidos à técnica de Restrição Enzimática (PCR-RFLP) utilizando-se a enzima de restrição *Alw26I* (Fermentas UAB, Lituânia), seguindo protocolo do fabricante. Para a visualização dos fragmentos digeridos, foi feita eletroforese em gel de poliacrilamida a 8,0 e corado em solução de (EtBr) para análise dos produtos da restrição. O polimorfismo de *GSTP1*, após a PCR-RFLP, pôde ser identificados os genótipos homocigoto selvagem (Ile/Ile) com 176 pb, homocigoto mutante (Val/Val) com fragmentos de 91 e 85pb, e o heterocigoto (Ile/Val) os fragmentos de 176, 91 e 85 pb.

Na análise estatística, o teste do qui-quadrado (X^2) de homogeneidade foi utilizado para comparar dados sócio-demográficos como idade e sexo. Esse teste foi realizado em tabelas de contingência 2x2 e 3x2, com o auxílio do *software* BioEstat[®]

3.0. A análise de risco relativo ao polimorfismo do gene *GSTP1* e o câncer da laringe foi avaliado pelo teste de “*Odds Ratio*” e o coeficiente de intervalo de 95% para indicar o risco que um determinado genótipo possui em relação ao grupo controle. O teste de *Kruskal-Wallis* foi utilizado para se comparar a idade entre os grupos, e o teste T para se comparar a média de idade entre diferentes grupos genotípicos. Todos os testes foram realizados com $p=0,05$ como nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos casos 74% eram do sexo masculino e 24% do sexo feminino e quanto ao grupo controle, 78% eram do sexo masculino e 22% do sexo feminino. Os dados do presente estudo sugerem que o CEC de laringe é 3,5 vezes mais frequente em homens quando comparados com os resultados de Silva (2003), obtidos na mesma população (Goiânia-GO).

A média das idades dos pacientes avaliados foi de 58,1 (DP 10,48), enquanto o grupo controle foi de 53,4 (DP 9,6). Os pacientes com menos de 42 anos totalizaram 10%, e entre 43 a 53 anos, 26%. A faixa etária de 54 a 64 anos apresentou o maior número de pacientes, com 44%, já os pacientes com mais de 65 anos de idade somaram 20%. Silva (2003) observou em sua análise epidemiológica que 45,1% dos pacientes se encontravam na faixa etária entre 41 e 60 anos.

A figura 1 demonstra que não houve diferença estatística entre os grupos analisados. No entanto, a menor idade foi encontrada no grupo controle de 29 anos, e a maior idade no grupo caso de 76 anos.

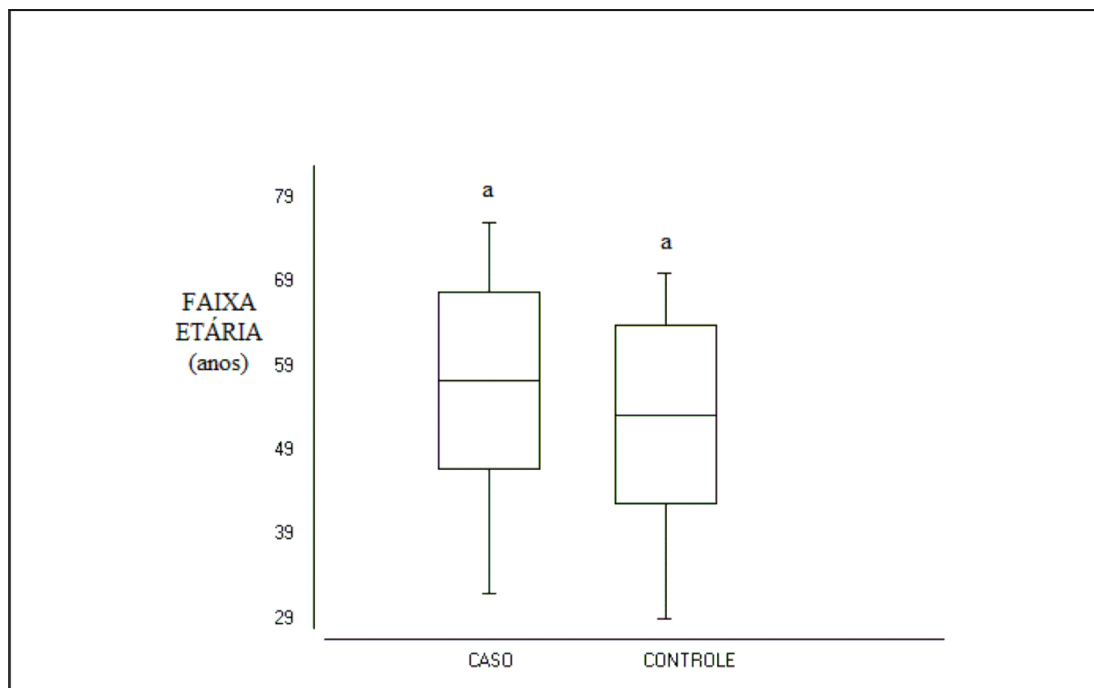


Figura 1: Comparação das idades entre os grupos casos e controles dos pacientes com Carcinoma Espinocelular da Laringe observados no Hospital Araújo Jorge em Goiânia - GO, executados nos anos de 2009 e 2010

De acordo com o resultado do teste de X^2 , os intervalos de idade entre os grupos caso e controle não apresentaram diferenças estatisticamente ($X^2=2,49$; $p= 0,28$), indicando adequação no pareamento por intervalo de idade. A frequência de homens e mulheres também foi homogeneamente distribuída entre os grupos de pacientes e controles, indicando que o pareamento por sexo foi adequado e com os valores de $X^2=2,92$ e de $p= 0,12$ (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição dos dados sociodemográficos, quanto à idade e sexo, dos grupos caso e controle estudados em Goiânia - GO, executados nos anos de 2009 e 2010

	n(%)	n (%)			
<42	5(10)	8(16)	2,49	98	0,28
43-53	13 (26)	14 (28)			
54-64	22 (44)	19 (38)			
≥ 65	10 (20)	9 (18)			
			2,92	1	0,12
Sexo Masculino	34 (74)	39 (78\0)	-	-	-

Os resultados obtidos indicam que a população masculina é mais acometida com essa neoplasia do que a população feminina, condizendo com as publicações de Guerra *et al.* (2005) e Sartor *et al.* (2007). Eles afirmam que o câncer de laringe responde por

2,8% dos novos casos de câncer em homens no mundo, tendo uma incidência ajustada por idade pela população mundial de 5,7/100 mil. Entre as mulheres o CEC é menos frequente, com uma estimativa de incidência ajustada por idade pela população mundial de 0,7/100 mil. Em estudo conduzido para investigar a ocorrência de câncer de cabeça e pescoço em população do Brasil, foi verificado que a mais alta taxa de incidência, ajustada por idade pela população mundial, destes tipos de câncer combinados, encontrava-se em Campinas, SP (7,4/100 mil por ano) e Goiânia-GO (6,4/100 mil por ano) (AMÂNCIO, 2010).

Em relação aos hábitos de vida tabagismo e etilismo, das 50 amostras casos, 30% (15/50) dos pacientes eram fumantes e 58% (29/50) eram etilistas, levando em consideração que todos os que estão incluídos no grupo de etilistas também eram tabagistas. A Tabela 3 apresenta dados referentes ao tempo de exposição ao tabaco e ao álcool dos pacientes analisados. Predominantemente, o tempo superior a 20 anos de exposição aos dois fatores de risco foi o de maior prevalência entre os pacientes.

Tabela 3: Dados referentes ao tempo de exposição dos pacientes aos hábitos tabagistas e etilistas em Goiânia (GO) no período de 2009 e 2010

Hábitos	Tempo de Exposição	Quantidade de indivíduos
	(anos)	(%)
Tabagistas	< 20	3,4
	>20	96,6
Etilista	<20	0,8
	>20	89,2

Estudos epidemiológicos tem apontado uma tendência no aumento do número de mulheres que aderiram aos hábitos de tabagismo e etilismo. Esses hábitos em sinergismo crônicos são os fatores de risco estabelecidos e de forte associação aos tumores de laringe, como citado por Menezes et al. (2002) e Silva (2003) corroboram com nossos dados.

O Sistema Tumor - Linfonodo - Metástase (TNM) também foi investigado e os casos de câncer foram divididos em grupos, de acordo com os estádios deste sistema. Do total de 50 casos, o estágio I apresentou 26%, o estágio II, 22%, o III 22% e o estágio IV apresentou 12%. Tais dados sugerem que o diagnóstico apresenta uma tendência tardia, tendo um impacto negativo no tratamento, na sobrevida e na qualidade de vida do paciente. No estudo epidemiológico de Silva (2003) que avaliou o CEC na população de Goiânia - GO em 10 anos (1988 e 1998) observou-se que os estádios III (25%) e IV (18%), apresentaram uma maior frequência. Nossos resultados demonstram que a frequência percentual está diminuindo para sistema TNM, o estágio III e IV apresentaram percentuais inferiores ao do estudo de Silva (2003), 22% e 12% respectivamente. Em função do estágio I apresentar maior percentual, observa-se que mesmo sem a realização de campanhas de prevenção em massa, o diagnóstico está sendo realizado precocemente na população goianiense.

Dos 50 prontuários analisados 18% não apresentavam dados referentes ao quadro clínico e cirúrgico dos pacientes. Foi observada uma deficiência no preenchimento dos prontuários médicos, comprometendo principalmente a definição do estadiamento dos casos de CEC. Segundo o Art. 69 do Código de Ética Médica, o clínico tem o dever de elaborar o prontuário para cada paciente a que assiste. O prontuário é um documento valioso para o paciente, para o médico, para as instituições de pesquisa e ensino, e para os gestores públicos de saúde e todo o cuidado deve ser tomando para que nele sejam registradas as informações de diagnóstico, prognóstico, tratamentos e resultados. Um prontuário deve conter ainda toda documentação com Termo Consubstanciado, livre e esclarecido (TCLE) e as autorizações para procedimento e tomadas de decisão, quando se fizerem necessárias (REIS, 2005).

É importante que os médicos e outros profissionais de saúde, que tenham acesso aos prontuários, se conscientizem da necessidade de realizar um preenchimento eficiente do documento com intuito de fornecer dados completos para estudos epidemiológicos e conseqüentemente transformá-lo em um poderoso instrumento de pesquisa capaz de ampliar o conhecimento, facilitar as tomadas de decisão e otimizar o tratamento das patologias (AMÂNCIO, 2010).

Quanto ao tratamento realizado nos pacientes diagnosticados com câncer da laringe, apenas 29 dos 50 pacientes continham essa informação nos prontuários, e destes

68% realizaram a laringectomia. Em 55% dos casos, a laringectomia total foi a cirurgia escolhida e 20% a laringectomia parcial. Todos os pacientes que sofreram a laringectomia total também foram submetidos ao esvaziamento cervical. Corroborando com dados da literatura.

As frequências alélicas do gene GSTP1 para os alelos Ile e Val foram de 70 e 30% respectivamente, para os pacientes com carcinoma de laringe, 76 e 24% para o grupo controle, respectivamente. Pelo teste do X^2 , a diferença alélica entre os grupos caso e controle não mostrou-se significativa, tendo o $p = 0,97$. A distribuição das respectivas frequências encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4: Distribuição e frequência alélica do gene GSTP1 entre os grupos caso e controle em Goiânia (GO), executados nos anos de 2009 e 2010

GSTP1	Caso	Controle	X^2	GL	P
	n (%)	n (%)			
^{0,036} Ile	35 (70)	38 (76)		1	0,97
Val	15 (30)	12 (24)			
Total	50 (100)	50 (100)	-	-	-

Foram observadas as frequências genotípicas em 52% no grupo caso e 56% no grupo controle de homozigotos selvagem (Ile/Ile); 34% de heterozigotos (Ile/Val) nos casos e 40% nos controles; e 14% de homozigoto mutante (Val/Val) no grupo caso e 4% no grupo controle, respectivamente. A distribuição das frequências encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5: Distribuição das frequências genótípicas do gene GSTP1 entre os grupos caso e controle dos pacientes com Carcinoma Espinocelular da Laringe do Hospital Araújo Jorge em Goiânia (GO), executados nos anos de 2009 e 2010

GSTP1	Caso (%)	Controle (%)	X ²	GL	P
Ile/Ile	26 (52)	28 (56)	3,095	2	0,21
Ile/Val	17 (34)	20 (40)			
Val/Val	07 (14)	02 (4)			
Total	50 (100)	50 (100)			

O teste “Odds Ratio” (OD) foi aplicado para verificar se a presença dos genótipos Ile/Val e Val/Val estavam relacionadas com o risco do câncer da laringe (Tabela 6).

Tabela 6: Número de indivíduos com ou sem genótipos de risco e respectivas Odds Ratio, Intervalo de Confiança 95% (IC) e valor de p para o polimorfismo de GSTP1 entre os grupos caso e controle em Goiânia (GO), executados nos anos de 2009 e 2010

Genótipo	Caso		Controle		OR	IC 95%	P
	GR ¹	GNR ²	GR ¹	GNR ²			
Ile/Val	17	26	20	28	0,915	0,40-2,11	0,99
Val/Val	07	26	02	28	3,80	0,71-19,81	0,80
(Ile/Val + Val/Val)	24	26	22	28	1,17	0,53-2,6	0,84

Legenda: ¹= GR – genótipo considerado de risco; ²= GNR – genótipo não considerado de risco.

A frequência genotípica para o GSTP1 não foi estatisticamente diferente entre pacientes do grupo caso e controle. Neste sentido, não foram observadas associações entre o risco relativo entre os genótipos considerados de risco e os genótipos ditos selvagens. As variáveis, sexo e estilo de vida não se mostraram estatisticamente significativas entre os grupos caso e controle.

No estudo de Silva Jr. (2008), os dados demonstram que o genótipo GSTP1 é um fator genético de alto risco para o desenvolvimento de tumores, e já foi associado ao desenvolvimento de diversos tipos de cânceres, como o de pulmão, bexiga, mama e de cabeça e pescoço. Os dados obtidos no presente estudo foram condizentes com os de Peters et al. (2006), onde não foi encontrado nenhuma associação do polimorfismo do GSTP1 (A/G no éxon 5) e câncer de cabeça e pescoço.

Poucos estudos avaliam associações entre o genótipo/fenótipo de GSTP1 no CEC de laringe com resultados conclusivos. Também há relatos contraditórios na literatura sobre a associação de polimorfismos do GSTP1 e as Células Escamosas de Cabeça e Pescoço. Park *et al.* (1999) analisou os polimorfismos de GSTP1 e encontrou um risco duas vezes mais elevado para as variantes desse gene. Em estudos de meta-análise desenvolvido por Habdous *et al.* (2004), os mesmos demonstram que o polimorfismo de GSTP1 influencia no desenvolvimento de câncer de bexiga.

As análises genotípicas trazem informações sobre as vias metabólicas de carcinógenos específicos. Entretanto, há divergências entre os diferentes estudos que envolvem estes genes do biometabolismo. Neste sentido, estudos longitudinais avaliadores do impacto dos polimorfismos das enzimas de fase II do metabolismo associados ao câncer de laringe são imprescindíveis e são as ferramentas de identificação de pacientes com risco de futuros carcinomas.

ANALYSIS OF SUSCEPTIBILITY GENE GSTP1 ALLELIC IN PATIENTS WITH LARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Abstract: polymorphism of the gene encoding the enzymatic phase of detoxification of carcinogens may modify the biometabolismo of these agents. The aim of this study was to compare the allelic frequency of the GSTP1 gene in case-control groups and investigate the degree of susceptibility of patients diagnosed with CEC of the larynx by the SCP/HAJ.

Keywords: Polymorphism. GSTP1. Larynx Cancer. PCR-RFLP and Case-control Study.

Referências

ABDEL-RAHMAN SZ, EL-ZEIN RA, ANWAR WA, AU WW. 1996. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Cancer Lett.* v.10, p. 229-233,1996.

ACAR HK, OZTURK MH, MUSLUMANOGLU MS, YILDIRIM et al. Relation of glutathione S-transferase genotypes (GSTM1 e GSTT1) to laryngeal squamous cell carcinoma risk. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, v.169 , n.2, p.89-93, 2006.

AMÂNCIO AP. Análise da susceptibilidade alélica do gene *gstp1* em pacientes com carcinoma espinocelular de laringe. Monografia. Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia, GO. 44p. 2010.

BISELLI JM, LEAL CAC, RUIZ MT, GOLONI-BERTOLLO EM, MANÍGLIA JV et al. Polimorfismos GSTT1 e GSTM1 em indivíduos tabagistas com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, set.-out. 2006.

CAMPONÊS DO BRASIL O.; MANRIQUE D. O câncer de laringe é mais frequente do que se imagina. *Einstein.* v.2, n. 3, p. 222-224, 2004.

GUERRA MR, GALLO CVM, AZEVEDO G, MENDONÇA S. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. *Rev Bras Cancerol*, v.51, n.3, p. 227-234, 2005.

GOLONI-BERTOLLO EA, BISELLI JM, CORRÊA LC, MANÍGLIA J. et al. Avaliação da influência da nulidade dos genótipos GSSTT1 e GSTM1 na carcinogênese em cabeça e pescoço. *Rev Assoc Med Bras*, v.52, n.5,p. 8-365,2006.

HABDOUS MG, SIEST B, HERBETH M. et al. Polymorphismes des glutathione S- transférases et pathologies humaines: bilan des études épidémiologiques. *Ann Biol Clin.* v.62, n.1, p. 15-24, 2004.

HARRIES LW, STUBBINS M J, FORMAN D. et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis.* v.18, p.641-644, 1997.

- JEONG W J, JUNG YH, KWON SK, HAH JH, KWON TK, SUNG MW, KIM KH. Role of Surgical Salvage for Regional Recurrence in Laryngeal Cancer, v.117, n.1, p.74-77, 2006.
- MACIEL ME. Genes do biometabolismo: aspectos populacionais em Euro- descendentes e Afro-descendentes do sul do Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. PR. 42 p. 2007.
- MANFRO G, DIAS F L, SOARES J R N, LIMA R A, REIS T. Relação entre idade, sexo, tratamento realizado e estágio da doença com a sobrevida em pacientes terminais com carcinoma epidermóide de laringe. Rev Bras Cancerol. v.52, n.1, p.17-24, 2005.
- MENEZES AMB, HORTA BL, OLIVEIRA ALB. et al.. Risco de câncer de pulmão, laringe e esôfago atribuível ao fumo. Rev Saúde Pública. v.36, n.2, p. 129- 134, 2002.
- PETERS ES, MCCLEAN MD, MARSIT CJ, LUCKETT B, KELSEY KT. Glutathione S-Transferase Polymorphisms and the Synergy of Alcohol and Tobacco in Oral, Pharyngeal, and Laryngeal Carcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, v.15, n. 11, p. 2196-202, 2006.
- REIS AAS. Estudo da associação do polimorfismo genético em carcinomas da tireóide. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia,GO. 196p. 2010.
- REIS AAS. O papel do papilomavírus humano na carcinogênese dos tumores de pênis: uma abordagem epidemiológica e molecular. Dissertação Mestrado (Cap. 4). Universidade Federal de Goiás. Goiânia,GO, 136p. 2005
- PARK JYJ, MUSCAT E, SCHANTZ SP, STERN JC, RICHIE JR JP, LAZARUS P. Comparison of GSTM polymorphisms and risk for oral cancer between African- Americans and Caucasians. Pharmacogenetics. v.10, n.2,p. 123-131, 1999.
- SARTOR SG, NETO JE, TRAVIER N, WUNSCH FILHO V. et al Riscos ocupacionais para o câncer de laringe: um estudo caso-controle. Cad. Saúde Pública, v.23, n.6, p.1473-1481, 2007.
- SILVA AMC. 2003. Avaliação epidemiológica, citogenética e molecular de carcinomas da laringe. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO. 177p.
- SILVA JÚNIOR RL. 2008. Implicações dos polimorfismos genéticos de CYP1A1, GSTM1 E GSTT1 na suscetibilidade do carcinoma espinocelular da laringe. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO. 163 p.
- SOYA SS, VINOD TK, REDDY S, GOPALAKRISHNAN S, ADITHAN C. Genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and upper aerodigestive tract cancer risk among smokers, tobacco chewers and alcoholics in an Indian population. European Journal of cancer. Elsevier. v.43, p.2698-2706, 2007.

* Recebido em: 02.03.2012. Aprovado em: 12.03.2012. Os autores agradecem à Pro-Reitoria de Pesquisa e Extensão (Prope) pela Bolsa de Iniciação Científica concedida à aluna Andréia Pires Amâncio, do Departamento de Biologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás).

ANDRÉIA PIRES AMÂNCIO

Acadêmica do Departamento de Biologia Bolsista BIC-PROPE da PUC Goiás.

DANILO CONRADO SILVA

Acadêmico de Biologia na PUC Goiás. Bolsista CNPq – PIBIC PROPE/PUC Goiás.

CAROLINE OLIVEIRA DE ARAUJO MELO

Núcleo de Pesquisas Replicon do Departamento de Biologia da PUC Goiás.

RAIMUNDO LIMA SILVA JÚNIOR

Núcleo de Pesquisas Replicon do Departamento de Biologia da PUC Goiás.

MARIA PAULA CURADO

Serviço de Cabeça e Pescoço do Hospital Araújo Jorge Associação de Combate ao Câncer em Goiás (ACCG).

ANGELA ADAMSKI DA SILVA REIS

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Universidade Federal de Goiás.

APARECIDO DIVINO DA CRUZ

Departamento de Biologia / Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás.