



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
MESTRADO EM GENÉTICA

ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE *CYP1A1m1*
EM PACIENTES COM GLAUCOMA PRIMÁRIO DE
ÂNGULO ABERTO DE UMA CLÍNICA
OFTALMOLÓGICA EM GOIÂNIA, GO

NATHALIE BORGES COSTA

Goiânia, GO

2011



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
MESTRADO EM GENÉTICA

ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE *CYP1A1m1*
EM PACIENTES COM GLAUCOMA PRIMÁRIO DE
ÂNGULO ABERTO DE UMA CLÍNICA
OFTALMOLÓGICA EM GOIÂNIA, GO

NATHALIE BORGES COSTA

Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética MGENE da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, para obtenção parcial do título de Mestre em Genética.

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. KÁTIA KARINA VEROLLI DE O. MOURA
CO-ORIENTADORA: Prof^ª. ARIANE BOCALETTO FRARE MSc.

Goiânia, GO
2011

C837e Costa, Nathalie Borges.

Análise do polimorfismo do gene CYP1A1ml em pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto de uma clínica oftalmológica em Goiânia, GO [manuscrito] / Nathalie Borges Costa. – 2011.

87 f. : il.

Bibliografia: f. 53+78

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2011.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kátia Karina Verolli de O. Moura.

Co-orientadora: Prof^a. Ariane Bocaletto Frare.

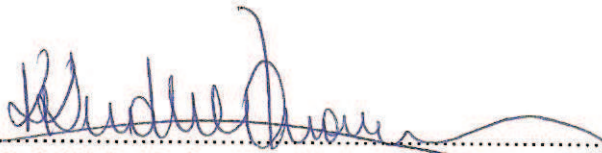
Inclui lista de figuras, tabelas, siglas, símbolos e abreviaturas.

1. Glaucoma primário de ângulo aberto – polimorfismo – estudo. 2. Genética. I. Título.

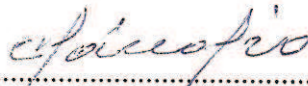
CDU: 617.7-007.681(043)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM GENÉTICA
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
DEFENDIDA EM 07 DE DEZEMBRO DE 2011 E APROVADA
PELA BANCA EXAMINADORA COM A NOTA

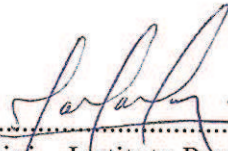
10,0 (Dez Inteiros.....)



Prof.^a. Dr.^a. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura, - PUC Goiás
(presidente-orientadora)



Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva / PUC Goiás
(membro interno)



Dr.^a Clausmir Zaneti Jacomini – Instituto Panamericano
(membro externo)



Ariane Bocaletto Frare, MSc - UFG
(coorientadora)

Dedico este trabalho...

À minha mãe Grace Borges,
ao meu pai Geraldo Costa,
ao meu irmão Caio Borges Costa.

Agradecimentos

A Deus por me dar forças e nunca me deixar desistir.

À minha mãe, por ter sacrificado alguns sonhos para que eu pudesse sonhar. Ao meu pai, por tudo o que faz com tanto amor e bondade. Ao meu irmão, meu companheiro ainda dentro da barriga da mamãe; - sei que sempre posso contar com você. Não me vejo sem vocês, meu amor por vocês é infinito.

À Prof^a Dr^a Kátia Karina Verolli O. Moura, que passei a admirar não só profissionalmente, mas pela pessoa que é. Obrigada pela orientação, compreensão e disponibilidade.

À minha co-orientadora Ariane Bocalleto Frare, pela paciência, amizade, e eficiência de sempre.

Aos amigos do mestrado, Ana Manoela Maria da Silva, Carolinne Borges Khayat, Constanza Thaíse Xavier, Judas Tadeu Nobrega, Paula Borges, que sempre fizeram das aulas momentos tão agradáveis.

Ao médico oftalmologista Rodrigo Egídio da Silva por ter gentilmente disponibilizado as amostras de seus pacientes. A estes e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

FIGURAS	viii
TABELAS	ix
ANEXOS.....	x
SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Glaucoma.....	16
1.1.1 Definição do Glaucoma.....	16
1.1.2 Fisiopatologia.....	16
1.1.3 Classificação do Glaucoma.....	18
1.2 Glaucoma Primário de Ângulo Aberto	19
1.2.1 Fatores de risco para o GPAA	20
1.2.2 Epidemiologia.....	23
1.2.3 Genética do Glaucoma	25
1.3 Biotransformação de Xenobióticos	29
1.3.1 Fases da Biotransformação.....	30
1.3.2 Citocromos P450.....	31
1.3.3 Polimorfismo genético no gene <i>CYP1A1</i>	34
1.3.4 Citocromo P450 e Glaucoma.....	36
2. JUSTIFICATIVA.....	37
3. OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo geral.....	38
3.2 Objetivos específicos.....	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1 Casuística	39
4.2 Extração de DNA genômico.....	39
4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)	40
4.4 Polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP)	42
4.5 Análise dos resultados.....	42
5. RESULTADOS.....	44
6. DISCUSSÃO.....	49

7. CONCLUSÃO.....	53
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXOS.....	80

FIGURAS

Figura 1. Esquema anatômico do globo ocular e dano ao nervo óptico devido ao aumento da PIO. Fonte: Biblioteca virtual em saúde, 2011.....	17
Figura 2. Produção e escoamento do humor aquoso. Fonte: Adaptada de Chavarría-Soley, 2008.....	17
Figura 3. Anatomia gonioscópica. Fonte: Mello e Mandia Júnior, 2005.....	18
Figura 4. Bloqueio do fluxo do humor aquoso a partir da malha trabecular. Fonte: Adaptada de Merck Canada, 2011.....	21
Figura 5. Geralmente, a cabeça do nervo óptico assemelha-se a uma "rosca", sendo a escavação o espaço central. No glaucoma, a escavação torna-se maior devido à destruição das fibras nervosas. Fonte: Hospital Oftalmológico da Barra, 2011.....	22
Figura 6: Gel de agarose 2% mostrando digestão enzimática para o polimorfismo <i>CYP1A1m1</i> . Nas colunas de 1 a 3 estão amostras de pacientes que foram submetidas a digestão enzimática com enzima MspI. O paciente 1 é homocigoto mutante m1/m1 (200 e 140pb), paciente 2 homocigoto selvagem w1/w1 (340pb) e o paciente 3 é heterocigoto w1/m1 (340, 200 e 140pb). O padrão de peso molecular (Ld) utilizado nesta análise foi de 100pb.....	44

TABELAS

Tabela I: Sequência nucleotídica dos primers CYP1A1 e ZFX/Y.....	40
Tabela II: Protocolo de Termociclagem para amplificação dos primers CYP1A1.....	40
Tabela III: Protocolo de Termociclagem para amplificação dos primers ZFX/Y.....	41
Tabela IV: Protocolo para a amplificação do gene <i>CYP1A1</i>	41
Tabela V: Protocolo para a amplificação do gene <i>ZFX/Y</i>	41
Tabela VI: Reagentes utilizados no processo de restrição enzimática e as concentrações utilizadas.....	42
Tabela VII: Sequência de clivagem e tamanho dos fragmentos esperados.....	42
Tabela VIII: Comparação da idade média entre o grupo glaucoma e o grupo controle.....	45
Tabela IX: Frequência dos genótipos w1/w1, w1/m1 e m1/m1 do gene <i>CYP1A1</i> entre os grupos glaucoma e controle.....	45
Tabela X: Distribuição genotípica entre os gêneros nos grupos estudados.....	46
Tabela XI: distribuição genotípica entre caucasóides, mongolóides e negróides nos diferentes grupos estudados.....	47
Tabela XII: distribuição genotípica entre pacientes tabagistas ou não nos grupos estudados.....	48

ANEXOS

Anexo I: Termo de consentimento livre e esclarecido.....	80
Anexo II: Consentimento da participação da pessoa como sujeito.....	82
Anexo III: Ficha técnica.....	83
Anexo IV: Questionário.....	84
Anexo V: Andamento do Projeto.....	85
Anexo VI: Aceite do resumo no World Ophthalmology Congress (WOC 2012 - Abu Dhabi).....	86
Anexo VII: Pêmio VI WorkShop de Genética.....	87
Anexo VIII: Aceite de Trabalho Científico – Congresso Oftalmologia USP 2011.....	88

SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A - adenina

AHH - aril hidrocarboneto hidroxilase

AhR - receptor aril hidrocarboneto

ATP - adenosina trifosfato

ATPase - enzima que catalisa a hidrólise do ATP

C - citosina

cm - centímetro

CYP - citocromo P450

CYP1A1 - citocromo P450, família 1, subfamília A, forma individual 1

CYP1A1m1 ou CYP1A1*2A- polimorfismo m1 do gene CYP1A1

CYP1B1 - citocromo P450, família 1, subfamília B, forma individual 1

CYP2 - citocromo P450, família 2

DNA - ácido desoxirribonucléico

dNTP - desoxirribonucleotídeo fosfatado

DP - desvio padrão

F - forward

FAD - flavina adenina dinucleotídeo

FMN - flavina mononucleotídeo

G - guanina

GO - Goiás

GPAA - glaucoma primário de ângulo aberto

GPAF - glaucoma primário de ângulo fechado

GPN - glaucoma de pressão normal

GST - glutathione S-transferase

GSTM1 - glutathione S-transferase Mu 1

GSTT1 - glutationa S-transferase Teta 1

HAPs - hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

H₂O - água

IBGE - Instituto Brasileiro de Geocrafia e Estatística

IC - intervalo de confiança

JOAG - glaucoma primário de ângulo aberto juvenil

K – potássio

m1/m1 - homozigoto mutante

Max - máximo

MEC - matriz extracelular

MgCl₂ - cloreto de magnésio

Min - mínimo

mL - mililitro

mM - milimolar

mmHg - milímetro de mercúrio

MT - malha trabecular

MYOC - myocilin

Na - sódio

NADH - nicotinamida adenina dinucleotídio com presença do hidrogênio

NADPH - nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato

NAT - N-acetiltransferase

ng - nanograma

nm - nanômetro

OR - Odds ratio

OHTS - Estudo de Tratamento de Hipertensão Ocular

OMS - Organização Mundial da Saúde

OPTN - optineurin

pb - par de bases

PCG - glaucoma congênito primário

PIO - pressão intraocular

p53 - proteína 53

R - reverse

RFLP - polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição

RNA - ácido ribonucléico

T - timina

Taq - *Thermus aquaticus*

TIGR – resposta a glicocorticóide pela malha trabecular

TNF-alfa - fator de necrose tumoral – alfa

tp53 - gene supressor de tumor p53

U - unidade

V – volt

x – vezes

w1/w1 - homocigoto selvagem

w1/m1 - heterocigoto

WDR36 - gene de domínio de repetição WD36

+/- - mais ou menos

% - por cento

µg - micrograma

°C - grau Celsius

∞ - infinito

[] - concentração

µL - microlitro

χ² - qui-quadrado

RESUMO

Glaucoma engloba inúmeras doenças oculares que têm como característica a lesão das células ganglionares da retina, com conseqüente lesão do nervo óptico e perda do campo visual. É considerada uma neuropatia óptica complexa e geneticamente heterogênea, levando à cegueira irreversível. A perda do campo visual é uma manifestação tardia do glaucoma, e portanto não é particularmente adequada para a detecção da doença em seu início. É a segunda causa de cegueira no mundo, respondendo por 12% dos casos, ficando atrás apenas da catarata (48%). A história familiar positiva é um importante fator de risco para o desenvolvimento do glaucoma primário de ângulo aberto, que é a forma mais comum da doença e que se manifesta principalmente após os 40 anos. O glaucoma, quando não diagnosticado e, portanto não tratado, pode levar a um risco maior de cegueira. Sendo assim, indivíduos com histórico familiar ou mesmo alterações nos genes associados ao glaucoma devem ter uma atenção médica mais dirigida aos seus aspectos preventivos, por isso a importância da procura de novos genes associados ao glaucoma. Até o momento foram identificados três genes relacionados ao glaucoma primário de ângulo aberto, o gene *myocilin* (*MYOC*), o *optineurin* (*OPTN*) e o gene de domínio de repetição WD 36 (*WDR36*). O gene *CYP1A1*, localizado no cromossomo 15q22-q24, codifica enzima que está envolvida na conversão de produtos químicos em moléculas altamente reativas, que podem produzir dano celular indesejado, morte celular ou mutações. O polimorfismo m1 está associado a uma maior atividade enzimática, tendo sido referido como fator genético de suscetibilidade para o câncer de pulmão. Este trabalho teve como objetivo verificar a possível associação entre 100 doentes com glaucoma primário de ângulo aberto e 52 controles por RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição). A frequência do gene *CYP1A1* entre os pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto (n=100) para o genótipo homozigoto selvagem w1/w1 foi de 16%; 77% para o genótipo w1/m1 e 7% para o genótipo m1/m1. Entre os pacientes do grupo controle (n=52) a frequência do gene *CYP1A1* foi de 54% para o genótipo w1/w1, sendo a frequência para o genótipo w1/m1 igual a 46% e 0% para o genótipo m1/m1. Foi realizado o χ^2 que mostrou que o resultado deste trabalho é estatisticamente significativo (P<0,0001), sugerindo relação entre o polimorfismo *CYP1A1m1* e o glaucoma primário de ângulo aberto.

Palavras-chave: glaucoma primário de ângulo aberto, RFLP, *CYP1A1m1*.

ABSTRACT

Glaucoma encompasses a group of eye diseases characterized by retinal ganglion cell damage, optical nerve damage and visual field loss. It is a complex optic neuropathy of genetically heterogeneity which can lead to irreversible blindness. The visual field loss is a late manifestation symptom, therefore it is not a reliable symptom to detect glaucoma in its early stages. It is the second biggest cause of blindness worldwide, responsible for 12% of all the cases of complete vision loss, while cataracts are responsible for 48% of reversible blindness worldwide. A positive family history plays an important role as a risk factor for primary open-angle glaucoma development. This is the most common form of glaucoma and it typically occurs after 40 years old of age. If the disease is neither detected nor treated properly the risk of blindness is higher. Patients with a positive family history or patients with mutations in genes that are known to be associated with glaucoma should have medical attention in order to prevent later complications. In this way it is extremely important to seek new genes that could be related to glaucoma. Up to this time three genes have been associated with primary open-angle glaucoma, the myocilin gene (*MYOC*), the optineurin gene (*OPTN*) and the repeat domain 36 gene (*WDR36*). The *CYP1A1* gene, located at 15q22-q24, encodes an enzyme which is involved in the conversion of chemical substances into highly reactive species leading to unwanted cell damage, cell death or mutation. The m1 polymorphism is related to a high rate of enzyme activity and it comprises increased lung cancer susceptibility. The objective of this paper is to analyze the correlation of 100 patients with primary open-angle glaucoma and 52 normal controls by the RFLP method (Restriction Fragment Length polymorphism). The frequency of the homozygous wild-type (w1/w1) of *CYP1A1* gene among patients with primary open-angle glaucoma (n=100) was 16%, for the genotype w1/m1 the frequency of was 77% and for m1/m1 it was 7%. Among the control group (n=52) the frequency of the homozygous wild-type (w1/w1) of *CYP1A1* gene was 54%, the frequency of w1/m1 was 46% and m1/m1 was 0%. The qui-square test (χ^2) considered the result statistically significant ($P < 0,0001$), and this suggests that the *CYP1A1m1* polymorphism is associated with primary open-angle glaucoma.

Keywords: primary open-angle glaucoma, RFLP, *CYP1A1m1*

1. INTRODUÇÃO

1.1 Glaucoma

1.1.1 Definição do glaucoma

Glaucoma é uma neuropatia óptica complexa e geneticamente heterogênea, engloba inúmeras doenças oculares que são caracterizadas pela morte progressiva por apoptose das células ganglionares da retina. Esse processo causa lesão progressiva do nervo óptico e a perda do campo de visão (Quigley et al, 1995; Shields et al, 1996). A perda do campo visual é uma manifestação tardia do glaucoma, e portanto não é particularmente adequada para a detecção da doença em seu início (Thylefors e Négrel, 1994).

O glaucoma é considerado a segunda principal causa de cegueira evitável do mundo, ficando atrás apenas da catarata (Resnikoff et al, 2004). É a principal causa de deficiências visuais e perda de visão, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (Tielsch et al, 1991). O glaucoma causa cegueira irreversível devido a morte das células ganglionares da retina, a qual só pode ser prevenida através de intervenção terapêutica no estágio inicial da doença. Já que o dano à visão periférica ocorre primeiro, e devido a doença ser tipicamente indolor e sem sintomas óbvios, a perda substancial da visão pode ocorrer antes que seja feito o diagnóstico (Chavarría-Soley, 2008).

1.1.2 Fisiopatologia

O glaucoma representa um problema de saúde pública, pois dificulta o trabalho do dia a dia devido a conseqüente deficiência visual, e está geralmente (mas não sempre) associado à elevação da pressão intraocular (PIO) (Figura 1) (Choudhary et al, 2009; Goldberg et al, 2002). O aumento da PIO leva a atrofia do nervo óptico, e se não for controlada, pode levar a cegueira. Essa elevação parece ser o resultado de uma falha no desenvolvimento da malha trabecular, uma estrutura localizada no ângulo ocular que tem a função de filtrar o humor aquoso, permitindo a drenagem do líquido presente na câmara anterior do olho (Anderson, 1981).

O humor aquoso é produzido pelo corpo ciliar na câmara posterior do olho e entra na câmara anterior através da pupila, em seguida, escoar através da malha trabecular

para o canal de Schlemm, que drena para a corrente sanguínea (Figura 2) (Chavarría-Soley, 2008).

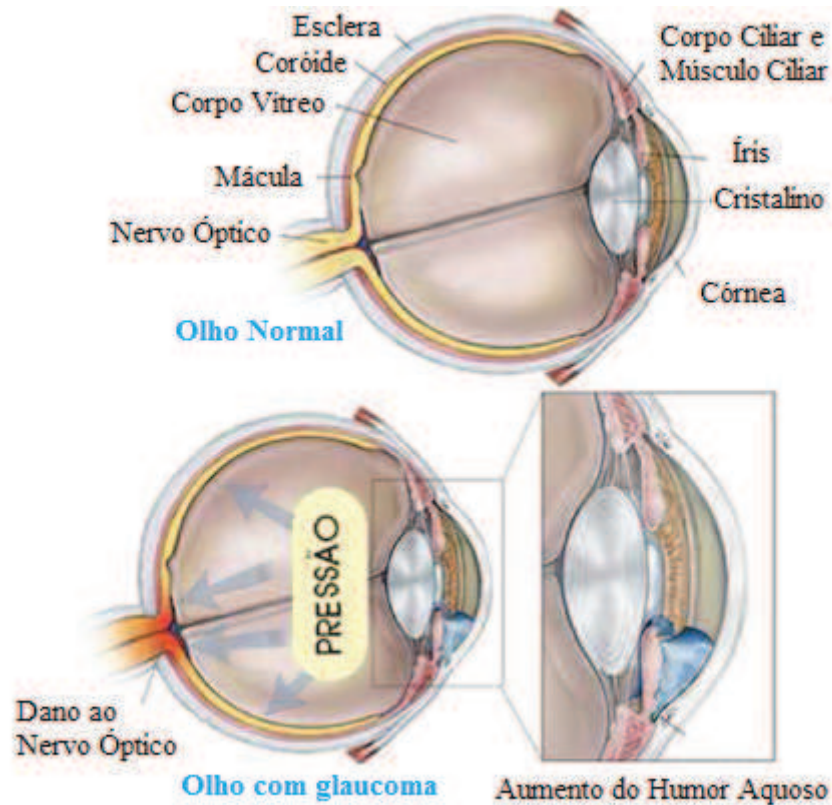


Figura 1. Esquema anatômico do globo ocular e dano ao nervo óptico devido ao aumento da PIO. Fonte: Biblioteca virtual em saúde, 2011.

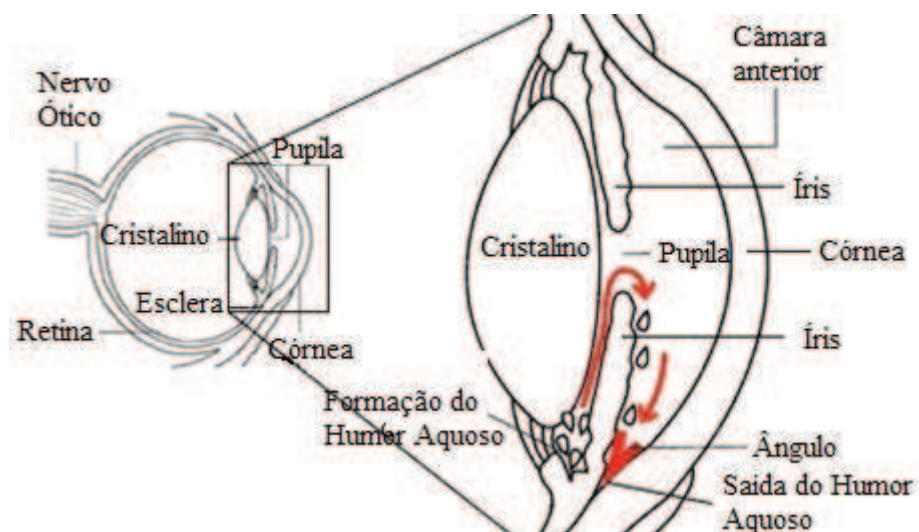


Figura 2. Produção e escoamento do humor aquoso. Fonte: Adaptada de Chavarría-Soley, 2008.

O seio camerular compreende uma série de estruturas que inclui desde a íris periférica até a linha de Schwalbe, e é a observação destas estruturas e suas correlações topográficas por meio da gonioscopia, um exame microscópico da periferia da câmara anterior do olho (seio camerular), que permite classificar o seio camerular ou ângulo, em aberto ou fechado (Figura 3) (Série Oftalmologia Brasileira, 2009).

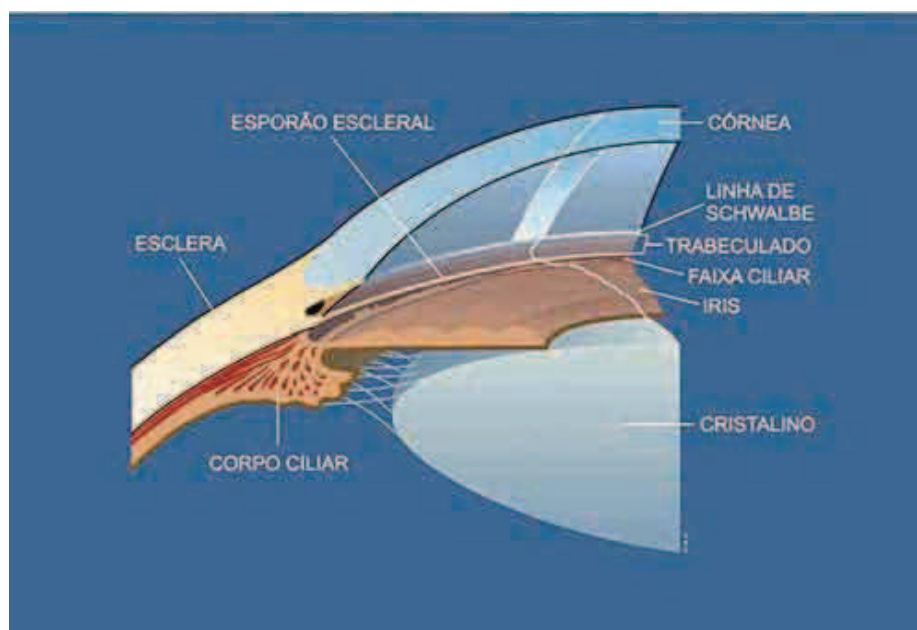


Figura 3. Anatomia do seio camerular. Fonte: Mello e Mandia Júnior, 2005.

Sabe-se que a neuropatia óptica glaucomatosa ocorre em pacientes que apresentam níveis de PIO dentro dos limites da normalidade, assim como alguns pacientes que apresentam níveis elevados de PIO não chegam a desenvolver a doença. Acredita-se então, que o desenvolvimento da lesão glaucomatosa dependeria, dentre outros fatores, dos níveis de PIO e da susceptibilidade individual de cada paciente. Ou seja, o glaucoma ocorreria nos casos em que os níveis de PIO se apresentem suficientemente elevados para um determinado indivíduo. Entretanto, as características anatomofisiológicas individuais que predisporiam a uma maior susceptibilidade ao dano glaucomatoso permanecem mal compreendidas (Burgoyne et al, 2005; Sigal et al, 2005).

1.1.3 Classificação do glaucoma

A compreensão da origem do glaucoma é complexa, uma vez que vários parâmetros oculares estão envolvidos na fisiopatogenia da doença, o que influencia na sua

classificação (Leske, 1983). O glaucoma pode ser classificado de acordo com a sua etiologia em primário ou secundário, aspecto anatômico do seio camerular em ângulo aberto ou ângulo fechado e segundo a idade de seu aparecimento em congênito, juvenil ou adulto (Shields et al, 1996).

O glaucoma é classificado em 04 grandes grupos: 1) glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA), sendo este o grupo de maior incidência; 2) glaucoma primário de ângulo fechado (GPAF); 3) glaucoma combinado, exemplo: glaucoma secundário a catarata (área enevoadada ou opaca no cristalino), uveíte (doença inflamatória que pode comprometer totalmente a úvea ou uma de suas partes - íris, corpo ciliar e coróide), trauma ocular (acidentes que acometem os olhos, provocados por objetos pontiagudos, substâncias químicas, brinquedos), entre outros; 4) glaucoma do desenvolvimento (congênito, juvenil, etc.), onde ocorre uma anormalidade do segmento anterior dos olhos que se inicia no nascimento (Stamper et al, 1999).

Embora o glaucoma seja uma das principais causas de deficiência visual e cegueira em todo o mundo, existe pouca informação disponível sobre a magnitude exata do problema provocado pela doença. Quando a Organização Mundial da Saúde (OMS) planejou o seu programa para a prevenção da cegueira, o glaucoma foi incluído entre as necessidades de ação global contra as causas de cegueira evitável, sendo que as outras causas são a catarata, tracoma (doença oftálmica altamente contagiosa de etiologia bacteriana), deficiência de vitamina A e oncocercose (doença parasitária causada pelo nematódeo *Onchocerca volvulus*, podendo as microfilárias migrarem para os olhos). Já em maio de 1975, foi solicitado pela Assembléia Mundial de Saúde à OMS, que essa apresentasse as medidas adequadas para a detecção precoce e tratamento de outras condições que potencialmente levassem a cegueira, como catarata e glaucoma (Thylefors e Négrel, 1994).

1.2 Glaucoma Primário de Ângulo Aberto

A etiologia do GPAA é pouco compreendida, com ambos os fatores genéticos e ambientais contribuindo para a sua fisiopatologia (Lichter, 1994; WuDunn, 2002). Independentemente dos fatores causais que conduzem à perda visual, a maioria dos quais ainda não são compreendidos, a via final comum do GPAA é a morte de células ganglionares da retina, mediada por apoptose, e por um processo de regulação genética (Nickells, 1999).

De acordo com a idade de seu início, o GPAA pode ser dividido em glaucoma primário de ângulo aberto juvenil (JOAG) e GPAA de início na idade adulta. JOAG se

desenvolve antes dos 35 anos e raramente é uma forma agressiva de glaucoma, é uma herança autossômica dominante ou recessiva (Johnson et al, 1996; Wiggs et al, 1995).

O GPAA do adulto tem início em pessoas com idade mais avançada, e não apresenta um padrão de herança evidente; é considerada uma característica complexa (Wiggs et al, 1996). Um subgrupo de GPAA de início na idade adulta apresenta o que é conhecido como glaucoma de pressão normal (GPN), em que os indivíduos sofrem danos no nervo óptico e apresentam perda visual mesmo com valores normais de PIO (Anderson, 2003). Embora alguns casos de GPN sejam etiologicamente distintos do GPAA de PIO elevada, parece haver um espectro da doença pressão-dependente que reflete diferentes sensibilidades a uma dada pressão (Grupo de estudo colaborativo do glaucoma primário de pressão normal, 1998a; Grupo de estudo colaborativo do glaucoma de pressão normal, 1998b).

1.2.1 Fatores de risco para o GPAA

O termo "fator de risco" descreve características que podem ser a causa da doença, já que são estatisticamente associados a ela. Foram (ou poderiam ter sido) apresentados antes de sua ocorrência, e assim, juntamente com outros fatores poderiam ter desempenhado um "papel essencial" na ocorrência da doença. O conceito de fator de risco é importante na medicina moderna, pois cada um representa um alvo potencial para novas terapias, tratamento ou prevenção (Boland e Quigley, 2007).

Evidências publicadas indicam que o diagnóstico tardio do glaucoma é um importante fator de risco para a cegueira posterior e está associado a um conhecimento insuficiente sobre a doença (Saw et al, 2003). O GPAA é uma condição neurodegenerativa de origem multifatorial (Douglas, 1998; Schwartz e Yoles, 2000) e sua incidência tem sido associada a vários fatores de risco (Le et al, 2003), sendo a pressão intra-ocular (PIO) o principal entre eles (Stewart et al, 2000).

Esta relação entre PIO e GPAA é confirmada com grande frequência por vários estudos de prevalência (Leske et al, 2002). Nesses casos a deposição da matriz extracelular (MEC) na região da malha trabecular (MT) e / ou espessamento das lamelas trabeculares são considerados fatores que causam a obstrução ao fluxo do humor aquoso (Figura 4) (Lutjen-Drecoll et al, 1986; Tektas e Lutjen-Drecoll, 2009).

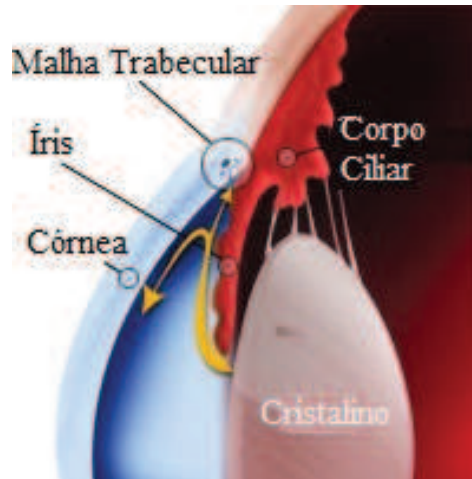


Figura 4. Bloqueio do fluxo do humor aquoso a partir da malha trabecular. Fonte: Adaptado de Merck Canada, 2011.

A elevação da PIO e danos no campo visual têm se mostrado proporcionais ao dano oxidativo no DNA (ácido desoxirribobucleico) encontrado na malha trabecular (Saccà et al, 2005). O aumento do dano oxidativo no DNA nos componentes celulares da malha trabecular pode afetar diretamente a regulação da estrutura da matriz extracelular e consequentemente da pressão intraocular, levando ao início do glaucoma (Knepper et al, 1996; Lutjen-Drecoll e Rohen, 1996).

A histologia da malha trabecular de pacientes glaucomatosos mostra um número menor de células, sendo a maior parte células senescentes, possivelmente devido ao estresse oxidativo e a remodelagem da MEC, sugerindo então que a malha trabecular seja uma importante região envolvida na etiologia do glaucoma (Liton et al, 2005; Lutjen-Drecoll, 1998; Wang et al, 2001).

O valor da PIO considerado como sendo normal é um dado estatístico resultante de estudos dos valores da mesma na população brasileira ($13,0 \pm 2,1$ mmHg) e não deve ser considerado de forma isolada para cada indivíduo. Portadores de PIO de valor maior ou igual a 21 mmHg são considerados hipertensos oculares. Usualmente, o valor da pressão é semelhante nos dois olhos. Diferença acima de 4 mmHg entre ambos é indicativo de anormalidade (Mello e Mandia Júnior, 2005).

Existem controvérsias sobre o papel que a PIO elevada desempenha como fator de risco para o desenvolvimento do GPAA, principalmente porque esse valor varia bastante de uma pessoa para outra (Chavarría-Soley et al, 2004). Le et al (2003) não encontraram risco significativo em casos de pessoas apresentando PIO maior que 21 mmHg (valor limite), entretanto Shingleton et al (1994) observaram que em portadores do glaucoma os valores de

PIO encontrados eram maiores que os valores encontrados em pacientes não portadores da doença.

A prevalência de GPAA varia dentre as diversas etnias, sendo mais prevalente, mais grave e de pior prognóstico em indivíduos negróides. De fato, um estudo realizado na região leste de Baltimore - Estados Unidos comparou a prevalência de GPAA entre dois diferentes grupos étnicos dentro de uma mesma amostra, revelando que os pacientes negróides apresentavam taxas de prevalência de GPAA três a quatro vezes maiores do que os pacientes caucasóides (Tielsch et al, 1991).

A ocorrência do glaucoma, o aumento da relação escavação-disco (escavação do disco óptico, um dos primeiros sinais do glaucoma) (Figura 5) e a PIO elevada são muito mais incidentes em irmãos e filhos de pacientes portadores da moléstia do que em parentes de pessoas não portadoras de glaucoma, e apresentam risco 10 vezes maior de desenvolverem a doença. O componente genético pode ser a causa de pelo menos 1/6 do total de casos de glaucoma na população em geral (Wolfs et al, 1998). Assim, a hereditariedade é considerada como um importante fator de risco. Não há dúvida de que fatores familiares desempenham relevante papel na suscetibilidade para o desenvolvimento de GPAA (Mello e Mandia Júnior, 2005).

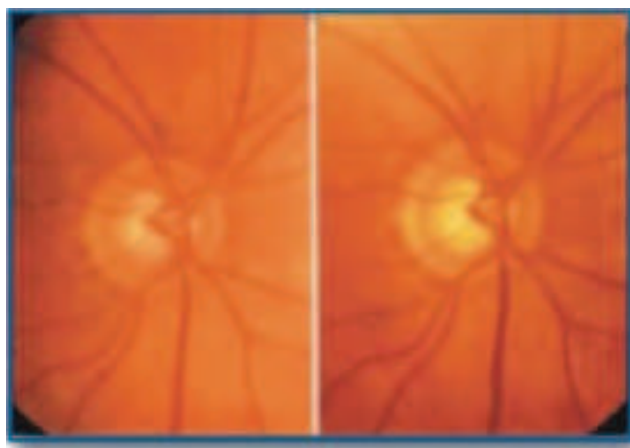


Figura 5. Geralmente, a cabeça do nervo óptico assemelha-se a uma "rosca", sendo a escavação o espaço central. No glaucoma, a escavação torna-se maior devido à destruição das fibras nervosas. Fonte: Hospital Oftalmológico da Barra, 2011.

Muitos estudos têm investigado a possível existência de associação entre GPAA e diabetes e a associação entre miopia e GPAA. Observou-se a prevalência aumentada de miopia entre pacientes glaucomatosos quando comparados com a população geral. Entretanto, a hipótese de que a miopia e o GPAA possam ter mecanismos patogénéticos comuns, como

anomalias do colágeno e outros componentes da matriz extracelular, ainda não foi comprovada (Mello e Mandia Júnior, 2005).

A idade está associada com GPAA, tanto a incidência quanto a prevalência aumentam com a idade (Quigley e Vitale, 1997). Podemos considerar a idade como um fator que leva a deteriorização do tecido, potencializando a morte das células ganglionares. Além de que quanto maior a idade, maior o tempo de exposição da pessoa a outros fatores de risco (como doenças cardiovasculares e síndrome de exfoliação) antes do desenvolvimento da doença (Boland e Quigley, 2007). Nos últimos anos tem sido observada associação entre o fumo de maneira passiva ou ativa e doenças oculares como o GPAA (Cheng et al, 2000; Grzybowski, 2008; Kang et al, 2011; Lois et al, 2008). Há evidências de que viver na zona rural seja um fator de risco para o glaucoma (Worley e Grimmer-Somers, 2011).

Outros fatores como doenças cardiovasculares, síndrome de exfoliação (existe aparente exfoliação na cápsula anterior do cristalino) e de dispersão do pigmento são considerados como fatores de risco para o GPAA. A teoria vascular sugere que distúrbios do fluxo sanguíneo no disco óptico devido a fatores vasculares locais ou sistêmicos, desencadeariam o processo de apoptose das células ganglionares. Estudos anteriores identificaram a doença cardíaca, derrame, baixa pressão de perfusão, hipertensão ou hipotensão arterial como fatores preditivos para o desenvolvimento de GPAA. A síndrome de exfoliação e síndrome de dispersão do pigmento foram observados como fatores preditivos para o desenvolvimento de glaucoma de ângulo aberto em alguns estudos (Gordon et al, 2007).

1.2.2 Epidemiologia

Em textos de epidemiologia, a causa de uma doença é definida como um evento, condição ou característica que desempenha um papel essencial na sua ocorrência (Rothman, 1986). A epidemiologia originou-se das observações de Hipócrates feitas há mais de 2000 anos de que fatores ambientais influenciam a ocorrência de doenças. Entretanto, foi somente no século XIX que a distribuição das doenças em grupos humanos específicos passou a ser medida em larga escala. Isso determinou não somente o início formal da epidemiologia como também as suas maiores descobertas (Beaglehole e Bonita, 2004). A epidemiologia é uma ciência médica fundamental, estuda a distribuição e os determinantes de eventos relacionados à saúde na população humana e sua aplicação na prevenção e controle dos problemas de saúde (Last, 2001).

Conhecer quem pode desenvolver uma determinada doença e em quais circunstâncias a pessoa está propensa a desenvolvê-la é de suma importância à prática diária da medicina, e representa informação relevante no aprimoramento das condições de saúde de determinada população (Greenberb et al, 2005). Dessa forma, conhecer a epidemiologia de uma das principais causas de cegueira no mundo é indispensável para a avaliação de cada paciente e para o planejamento de eventuais políticas de saúde pública que tenham como objetivo prevenir a cegueira pelo glaucoma (Sakata, 2006).

Estima-se que mais de 65 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem de glaucoma (Sathyamangalam et al, 2009). O GPAA é a principal causa de cegueira permanente. Estima-se que mais de 2 milhões de americanos apresentam GPAA, sendo que 4% daqueles com mais de 65 anos têm a doença. Como resultado do envelhecimento da população dos EUA, é projetado um aumento da prevalência de GPAA para mais de 3 milhões de pessoas até o ano de 2020 (Lee et al, 2007).

Estima-se que 3-6 milhões de pessoas nos Estados Unidos, sendo 4-7% pacientes com 40 anos de idade ou mais, apresentam PIO elevada sem dano glaucomatoso detectável nos testes clínicos (Quigley et al, 1994). A prevalência e a severidade de GPAA poderia ser reduzido através do tratamento de hipertensos oculares antes de desenvolverem o glaucoma. O Estudo de Tratamento de Hipertensão Ocular (OHTS) demonstrou que uma redução de 20% na PIO diminuiu a incidência de GPAA em mais de 50% (Kass et al, 2002).

No entanto, o tratamento de todos os indivíduos com hipertensão ocular não é uma indicação médica, nem é economicamente justificável devido a alta prevalência desta condição, à baixa taxa de conversão para GPAA, aos custos e aos possíveis efeitos adversos inconvenientes do tratamento (Kass et al, 2002; Kymes et al, 2006). Outra alternativa é o uso de estratificação de risco para identificar pacientes com alto risco de GPAA em desenvolvimento, que podem se beneficiar de uma rigorosa vigilância e, talvez, do tratamento precoce (Gordon et al, 2007).

Foi observado que a maioria dos estudos publicados relataram em número significativo, maior pressão intraocular em mulheres do que em homens, mas não há evidências quanto ao risco atribuível ao gênero em relação ao GPAA (Congdon et al, 1992). Condutas contra o glaucoma devem ser encaradas como prioridades emergentes que até agora não podiam ser eficazmente exercidas nos países em desenvolvimento, devido à escassez de pessoal qualificado e a falta de recursos para a saúde ocular. No futuro, porém, será possível fornecer estratégias novas e eficazes para a prevenção da perda visual e tratamento de baixo

custo dentro das estruturas e meios disponíveis nos países mais necessitados (Thylefors e Négrel, 1994).

Contudo o encargo dos custos do glaucoma no sistema de cuidado do olho nos Estados Unidos é substancial, estimativas da literatura variavam de 1,5 bilhões a 1,9 bilhões de dólares em custos anuais. Em 2006 a Reunião de Controle e Prevenção de Doenças de estimou em 2,8 bilhões de dólares os custos médicos para pacientes com glaucoma com 40 anos ou mais (Distelhorst e Hughes, 2003; Glick et al, 1994; Rein et al, 2006). Existem poucos estudos econômicos que têm analisado o custo do glaucoma em relação aos cuidados da saúde para as pessoas com glaucoma (Lee et al, 2007).

No Brasil, Silva et al (2002) verificaram que o custo mensal médio do tratamento antiglaucomatoso com colírios foi de 36,09 reais, correspondendo a 15,5% da renda familiar média. Nesse mesmo estudo, aproximadamente 1/4 dos pacientes relataram ter 25% ou mais de sua renda familiar comprometida com o tratamento do glaucoma e quase a metade (45,2%) relatou dificuldade em adquirir a medicação em algum momento do tratamento.

O glaucoma causa cegueira irreversível e muitas das pessoas afetadas (50%) estão cientes da sua condição (Tielsch et al, 1991). Em relação à prevalência de GPAA e GPAF na zona rural e urbana da população do sul da Índia, mais de 90% dos pacientes não tinham conhecimento sobre a doença (Vijaya et al, 2008). Maior conscientização sobre o glaucoma aumenta a detecção de casos, e assim, reduz a cegueira causada por ele. Agências governamentais e várias organizações não-governamentais têm como objetivo ensinar as pessoas a elevarem sua capacidade de manter o bem-estar, para conseqüentemente reduzirem os fatores de risco de doenças oculares (Garber, 1990).

Vários estudos sobre o comportamento dos indivíduos em relação a saúde sugerem que o conhecimento do paciente (ou a falta de conhecimento) a respeito do cuidado do olho pode desempenhar um papel significativo na busca de cuidados de tratamento ocular em momentos oportunos (Sathyamangalam et al, 2009).

1.2.3 Genética do glaucoma

Eventos moleculares responsáveis pelo glaucoma são de difícil identificação devido a falta de conhecimento sobre processos celulares e bioquímicos necessários para a regulação da PIO e das funções das células ganglionares da retina. O acesso ao tecido humano doente é complicado e modelos animais só foram desenvolvidos e descritos recentemente. A vantagem da abordagem genética é que proteínas responsáveis por desordens (como o

aumento da PIO) que levam ao glaucoma podem ser identificadas sem a necessidade de acesso ao tecido doente (Inman et al, 2006).

A identificação de genes (e seus produtos proteicos) que podem causar ou contribuir para a manifestação do glaucoma, ajudam a definir a fisiopatologia básica da doença, bem como levar ao desenvolvimento de novos testes baseados em diagnóstico utilizando o DNA e novas abordagens terapêuticas (Wiggs, 2007). A disponibilidade de testes preditivos podem proporcionar um mecanismo para a detecção da doença em seu início e seguir assim para o tratamento adequado. Os indivíduos em risco quando identificados no início do curso da doença, e que iniciam o tratamento antes da ocorrência de danos significativos ao nervo óptico, evitam maiores danos à visão (Kumar et al, 2007).

As formas do glaucoma que têm início precoce geralmente são herdadas como característica autossômica dominante ou recessiva, já o glaucoma que tem início na idade adulta (GPAA) normalmente não apresenta padrões de herança mendeliana, é portanto uma herança multifatorial complexa. Estes distúrbios oculares relacionados com a idade têm contribuição genética, são o resultado da interação de vários fatores genéticos e estão suscetíveis à influência de fatores ambientais. A tarefa de descobrir os genes que contribuem para distúrbios que apresentam um padrão de herança complexa não é fácil (Fisher et al, 2005; Stambolian et al, 2004; Wiggs et al, 1996; Wiggs et al, 2000; Wiggs, 2007).

O GPAA é uma doença geneticamente heterogênea, tendo sido relacionado a pelo menos 22 loci gênicos (Fan et al, 2006; Wang et al, 2006), entre eles 14 loci designados GLC1A a GLC1N (Kubota et al, 1997; Stone et al, 1997). Até o momento, 4 genes foram associados ao GPAA nos loci gênicos relatados, sendo eles os genes *MYOC/TIGR*, *OPTN* e o gene *WDR36* relacionados ao GPAA adulto e o *CYP11B1* ao GPAA juvenil (Monemi et al, 2005; Stoilov et al, 1997; Stone et al, 1997; Rezaie et al, 2002).

O gene *MYOC* foi o primeiro relacionado ao glaucoma a ser identificado (Stone et al, 1997). Localizado no cromossomo 1q24.3-q25.2, locus GLC1A, foi confirmado por vários estudos como a causa de 2 a 4% dos casos de GPAA (Adam et al, 1997; Alward et al, 1998; Angius et al, 1998; Fingert et al, 1999; Kee e Ahn, 1997; Mansergh et al, 1998; Rozsa et al, 1998; Suzuki et al, 1997; Wiggs et al, 1998). Mutações no gene *MYOC* foram identificadas como causa para o GPAA e como fator de risco para diferentes tipos de glaucoma (Polansky, 2003; Gong et al, 2004). *MYOC* é expresso em vários tecidos oculares, incluindo a malha trabecular (Fan et al, 2004).

O *MYOC* codifica uma proteína estrutural de 504 aminoácidos chamada miocilina, que é originalmente conhecida como TIGR (resposta a glicocorticóide pela malha

trabecular) (Fingert et al, 1998; Michels-Rautentrauss et al, 1998; Nguyen et al, 1998; Stone et al, 1997). Foi identificado inicialmente em culturas de células da rede trabecular incubadas com corticóide (dexametasona), e foram comparadas com as células do grupo controle, não incubadas com corticóide. Notou-se que nas células incubadas com corticóide, houve a formação de um material protéico. Por isso, a mutação do referido gene foi associada à produção dessa proteína pelas células da rede trabecular. Assim, estando entre as células, esse material obstruiria a passagem do humor aquoso, e levaria ao aumento da PIO (Nguyen et al, 1998). Foi constatado que os genes *TIGR* e *MYOC* compartilhavam a mesma sequência, o que fez com que o gene associado ao locus *GLC1A* passasse a ser denominado *TIGR/MYOC* (Kubota et al, 1997, Kubota et al, 1998).

O segundo gene, o *OPTN*, foi identificado no cromossomo 10p14-p15, mostrou ser a causa do GPN, um subtipo do GPAA. Alterações sequenciais nesse gene foram encontradas em 16,7% de famílias com GPN (Rezaie et al, 2002). *OPTN* (optineurin), é uma proteína de 577 aminoácidos e está localizada ao longo do olho, incluindo a malha trabecular, o canal de Schlemm, o epitélio ciliar, retina e nervo óptico. É expressa também em tecidos não oculares como o fígado, rim, coração e pâncreas (Yan et al, 2000; Yuan e Neufeld, 2000).

A expressão da proteína em células neuronais, células da glia, da retina e nervo óptico, indica que a *OPTN* pode afetar diretamente a sobrevivência das células ganglionares da retina (Rezaie et al, 2002; Rezaie et al, 2005; Sarfarazi e Rezaie, 2003). *OPTN* parece interagir com as proteínas que regulam a apoptose e pode induzir o TNF-alfa (fator de necrose tumoral). Portanto, pode regular diretamente a morte celular. Poucos estudos têm testado diretamente a função da proteína *OPTN* (Chen et al, 1998; Li et al, 1998).

Um novo locus relacionado ao GPAA (*GLC1G*) e o gene causador da doença, o *WDR36* (gene de domínio de repetição *WD36*) localizado no cromossomo 5q21.3-q22.1, foram identificados por Monemi et al (2005). Um estudo de análise de mutação no *WDR36* em 130 indivíduos afetados revelou um total de 25 variantes alélicas. Foram identificadas mutações no gene *WDR36* tanto em indivíduos com glaucoma de alta pressão, quanto em indivíduos com baixa PIO. Esta observação indica que esse gene está envolvido na etiologia de diferentes tipos de glaucoma (Monemi et al, 2005). No olho, *WDR36* é expresso na lente, na íris, na esclera, nos músculos ciliares, no corpo ciliar, na MT e no nervo óptico. No entanto, estudos posteriores não conseguiram confirmar o papel de *WDR36* como um gene causador de glaucoma. A função do *WDR36* e seu papel na fisiologia ocular normal e no glaucoma ainda não estão claros, mas foi identificado envolvimento do *WDR36* na ativação de células T (Kramer et al, 2006; Mao et al, 2004).

O gene *CYP1B1* (*citocromo P4501B1*) está localizado no locus GLC3A , no cromossomo 2p22-p21 (Sarfarazi et al, 1995; Stoilov et al, 1997). É um membro da superfamília de enzimas citocromo P450 e é a causa do glaucoma congênito primário (PCG), uma disordem genética que se manifesta no nascimento ou no primeiro ano de vida, mas pode surgir até três anos de idade (Dickens e Hoskins, 1996; Francois, 1980; Gencik, 1989). Mais tarde observou-se que uma mutação no *CYP1B1* foi associada ao início mais precoce da doença em pacientes portadores de mutação no gene *MYOC*, indicando que mutação no *CYP1B1* pode se comportar como um modificador do gene *MYOC* (Vincent et al, 2002). Estas e outras observações sugerem que mutações no *CYP1B1* podem ser uma causa do JOAG ou pelo menos um fator de risco para esta patologia (Acharya et al, 2006, Acharya et al, 2008; Melki et al, 2004).

O gene supressor de tumor *Tp53* está localizado no cromossomo 17p13.1 (Storey et al, 1998). Uma das principais etapas de regulação da apoptose é a ativação da proteína p53. O gene *Tp53* é um dos principais guardiões do genoma, e pode parar o ciclo celular em resposta ao dano no DNA ou direcionar a célula danificada para uma via de apoptose (Ressiniotis et al, 2005). A proteína p53 apresenta um polimorfismo que resulta na substituição de um aminoácido arginina (CGC) por uma prolina (CCC) na posição do codon 72 (Matlashewski et al, 1987). Observa-se que a variante *p53Arg* induz a apoptose mais eficientemente que *p53Pro*, indicando que as duas variantes são funcionalmente distintas (Dumont et al, 2003).

Lin et al (2002) observaram que a distribuição do polimorfismo no codon 72 do gene *Tp53* em uma população chinesa era significativamente maior em pacientes com GPAA do que em pacientes que não apresentavam a doença. Um resultado compatível com a idéia de associação entre a apoptose e a neuropatia glaucomatosa (Lin et al, 2002). Em contrapartida, Acharya et al (2002) não encontraram nenhuma associação entre o polimorfismo no códon 72 do gene *Tp53* com GPAA em pacientes indianos. O mesmo resultado foi observado por Silva et al (2009) em uma população brasileira. Portanto, a observação da variação de tal associação nos grupos de diferentes populações deve ser analisada (Acharya et al, 2002).

Silva (2011) observou relação estatisticamente significativa entre o GPAA e o polimorfismo *GSTM1* nulo, e não obteve resultado significativo entre GPAA e o polimorfismo *GSTT1*. Barbosa (2011) não encontrou significância estatística entre o polimorfismo *GSTM1* com GPAA. Glutathione S transferases (GSTs) representam uma

importante família de enzimas metabolizadoras que atuam na fase II do metabolismo de xenobióticos (Mustafa Ünal et al, 2007).

1.3 Biotransformação de Xenobióticos

Estamos diariamente expostos a vários compostos estranhos ao nosso corpo, os xenobióticos e essa constante exposição pode levar à absorção dessas substâncias através dos pulmões, pele ou ingestão. Os xenobióticos podem ter origem natural ou sintética e incluem fármacos, aditivos alimentares, pesticidas, toxinas, substâncias químicas de uso industrial e poluentes ambientais de diversos tipos. Podem ser inofensivos, ou provocar respostas biológicas de natureza farmacológica ou tóxica (Franco e Franco, 2003; Gandolfi e Sipes, 1991).

A eliminação dos xenobióticos ocorre através da urina, bile, fezes, ar expirado e transpiração, sendo que no caso de compostos não voláteis, essa eliminação depende da solubilidade da molécula em meio aquoso. Alguns xenobióticos mais hidrossolúveis podem ser eliminados de forma inalterada, isso é, para serem eliminados não necessitam passar pelo processo de biotransformação. Moléculas mais lipofílicas têm maior probabilidade de permanecerem no organismo, já que os meios usuais de eliminação são em grande parte aquosos. Por isso a importância do processo de biotransformação; assim compostos lipofílicos dão origem a metabólitos finais hidrossolúveis, graças a adição de um grupo hidroxila que torna o composto mais polar, e assim, mais solúvel em meio aquoso (Rocha, 2004). A biotransformação consiste portanto, em uma mudança química sofrida pelo xenobiótico no organismo, sob a ação de enzimas específicas e/ou inespecíficas (Meyer, 1996).

Nesse processo ocorrem reações que são catalisadas por enzimas, cuja produção é determinada geneticamente. Alguns genes controlam a produção dessas enzimas que atuam nas diferentes etapas da biotransformação (Korolkovas e Burckhalter, 1988; Lehninger et al, 1995; Nora e Fraser, 1985). Essas enzimas são encontradas em abundância no fígado, apesar de estarem presentes em quase todos os órgãos. Sua atividade é maior no fígado e nos tecidos situados nas portas de entrada do organismo, como o trato gastrointestinal, pele, pulmão e mucosa nasal. Rins, pâncreas, coração, cérebro, testículos, placenta, ovários também exibem importante capacidade metabólica em termos de biotransformação de xenobióticos (Rocha, 2004).

A modificação química de um xenobiótico pela biotransformação também pode alterar o seu efeito biológico. Muitos fármacos precisam ser inicialmente biotransformados

para exercerem o seu efeito terapêutico, da mesma forma que muitos xenobióticos só apresentam efeitos tóxicos depois de serem biotransformados. A biotransformação pode dar origem a metabólitos intermediários altamente reativos que, diferentemente das moléculas parentais às quais o organismo foi originalmente exposto, são capazes de se ligar a proteínas e ácidos nucleicos causando citotoxicidade e genotoxicidade (Omura, 1999; Vermeulen, 1996).

Através de testes bioquímicos realizados com o tecido hepático por centrifugações sucessivas foi possível constatar a presença e a localização de enzimas a nível subcelular nas diferentes frações: fração solúvel do citoplasma, o citosol (as enzimas encontradas são as desidrogenases, esterases, amidases e transferases), fração mitocondrial (enzimas: monoamino oxidases) e fração microsomal, relacionado aos microsomas que são estruturas do retículo endoplasmático (enzimas: citocromos P450) (Franco e Franco, 2003; Parkinson, 2001). A presença destas enzimas no retículo endoplasmático pode ser explicada pelo fato dos substratos primários das enzimas de biotransformação (xenobióticos) serem moléculas lipofílicas que tendem a se concentrar, portanto, na matriz lipoprotéica de que são constituídas as membranas (bicamada lipídica) do retículo endoplasmático (Parkinson, 2001).

A velocidade da biotransformação é afetada por fatores genéticos (polimorfismos), fisiológicos (doença, estado clínico, idade, sexo) e ambientais (poluentes e substâncias químicas industriais) ou por uso concomitante de outras drogas, entre outros fatores (Franco e Franco, 2003). Como a biotransformação, de modo geral, facilita a eliminação dos xenobióticos lipofílicos que podem causar efeitos adversos, ela é considerada um processo de desintoxicação (Gandolfi e Sipes, 1991; Parkinson, 2001; Vermeulen, 1996).

1.3.1 Fases da biotransformação

A maquinaria de metabolização xenobiótica possui dois tipos de enzimas: as de metabolismo oxidativo mediado, ou de fase I, e as enzimas conjugadas, ou de fase II. Muitos compostos são convertidos a metabólitos altamente reativos pelas enzimas oxidativas de fase I, principalmente enzimas da superfamília do citocromo P450 (CYPs). Em contraposição, as reações da fase II envolvem a conjugação com um substrato endógeno, por meio das glutathione S-transferases (GSTs), UDP glucuroniltransferases e N-acetiltransferases (NATs), que agem como enzimas inativadoras dos produtos da fase I, tornando os metabólitos hidrofílicos e passíveis de excreção (Rossit, 2000).

As reações que são catalisadas por enzimas de biotransformação podem ser agrupadas em duas fases: as reações de fase I e as reações de fase II. A fase I consiste em

reações de hidrólise, redução e oxidação, essas são reações que introduzem ou expõem um grupo funcional quimicamente reativo (-OH, -NH₂, -SH ou -COOH) na molécula do xenobiótico. Estas reações normalmente resultam em aumento discreto da hidrossolubilidade em relação à molécula original do xenobiótico, fornecem os grupos funcionais que possibilitam as reações de fase II de conjugação a um composto endógeno (Gandolfi e Sipes, 1991; Gibson e Skett, 1994; Parkinson, 2001).

As reações da fase II, que podem ser precedidas ou não pelas reações de fase I, incluem glicuronidação, sulfatação, acetilação, metilação, conjugação com glutatona, aminoácidos e ácidos graxos. Nestas reações, o metabólito oriundo da fase I, é ligado covalentemente a uma macromolécula endógena, dando origem a um conjugado hidrossolúvel que pode ser eliminado mais facilmente (Gandolfi e Sipes, 1991; Gibson e Skett, 1994; Parkinson, 2001). Embora a seqüência típica seja a fase II sucedendo a fase I, caso o xenobiótico possua grupos funcionais adequados, a conjugação pode ocorrer sem ser precedida pela fase I e, em alguns casos excepcionais, produtos conjugados de fase II podem ser substratos para reações catalisadas pelas enzimas de fase I (Rocha, 2004).

O sistema enzimático mais importante na catálise das reações de fase I é o sistema citocromo P450, localizado nas membranas do retículo endoplasmático, ou fração microsomal, de células de vários tecidos (principalmente no fígado, rins e intestino). Ao contrário do observado com os citocromos P450, enzimas ligadas à membrana microsomal, as enzimas de fase II são solúveis e encontradas livres na fração citosólica. Algumas enzimas de conjugação (fase II), no entanto, também estão localizadas na fração microsomal como por exemplo, as UDP-glicuroniltransferases (Gibson e Skett, 1994; Parkinson, 2001).

1.3.2 Citocromos P450

Os tipos e a quantidade de citocromo P450 variam de acordo com a espécie, o órgão, a idade, a saúde, o sexo, o estresse e a exposição a substâncias químicas (Gandolfi e Sipes, 1991; Gibson e Skett, 1994). Os CYPs que metabolizam xenobióticos são com freqüência, induzíveis pela exposição prévia ao substrato ou a outras substâncias exógenas, ou inibidos por outros xenobióticos e por diversas condições (Parkinson, 2001).

O termo citocromo P450 refere-se a uma família de heme proteínas (apresenta o grupamento prostético heme em sua estrutura) presentes em todos os tipos de células de mamíferos, exceto os glóbulos vermelhos maduros e as células musculares esqueléticas, que

catalisam a oxidação de uma grande variedade de compostos estruturalmente diferentes, podendo ocorrer também em procariotos (Masters e Okita, 1980).

A nomenclatura de uma proteína como citocromo P450 vem de suas propriedades espectrais, antes mesmo do conhecimento sobre suas funções catalíticas. Esse grupo de proteínas possui um espectro de absorvância obtido pela adição de um agente redutor a uma suspensão de vesículas do retículo endoplasmático (os microsomos), ocorre então o borbulhamento do gás monóxido de carbono dentro da solução. Esse gás é ligado à heme-proteína reduzida e produz um espectro de absorvância em 450nm (Gandolfi e Sipes, 1991; Stegeman e Livingstone, 1998).

Compostos sintetizados endogenamente (como esteróides e ácidos graxos) e compostos exógenos (como as drogas), são substratos para esse sistema enzimático que tem efeitos de longo alcance na medicina. Está envolvido em: inativação ou ativação de agentes terapêuticos; conversão de produtos químicos em moléculas altamente reativas, que podem produzir dano celular indesejado, morte celular ou mutações; produção de hormônios esteróides; e metabolismo de ácidos graxos e seus derivados (Masters e Okita, 1980).

As primeiras formas de CYP surgiram antes da divergência entre procariotos e eucariotos (Lewis et al, 1998) sendo a sua função, possivelmente, de metabolizar compostos endógenos e não xenobióticos. As primeiras CYPs com função comprovada de metabolizar xenobióticos, surgiram aproximadamente há 400–500 milhões de anos (Lang & Pelkonen 1999). Sugeriu-se que elas apareceram devido à coevolução entre animais e plantas: o consumo de plantas pelos animais atuou como pressão seletiva a favor de enzimas capazes de metabolizar as toxinas produzidas pelos vegetais (Gonzalez e Nebert 1990, Nebert 1997).

O sistema corrente de nomenclatura dos CYPs foi proposto por Nebert et al, 1996. O termo CYP, que representa as duas primeiras letras de citocromo (em inglês cytochrome) e a primeira letra de P450, é usado como prefácio para designar um gene ou uma proteína como uma forma de citocromo P450. A similaridade de sequência entre as diferentes formas de citocromo P450 possibilita sua classificação em várias subfamílias gênicas, esse sistema de nomenclatura vem sendo adotado universalmente. Algarismos arábicos designam a família específica de cada forma de citocromo P450, seguidos por letras maiúsculas para identificar a subfamília e por outros algarismos arábicos para designar a forma individual de citocromo P450. Membros da mesma família e subfamília compartilham uma homologia na sequência de aminoácidos de no mínimo 40% e 55%, respectivamente (Masters e Okita, 1980).

O aumento na atividade de enzimas citocromo P450 pode resultar de (1) duplicação gênica levando a uma super expressão de uma enzima citocromo P450, (2) a

indução da síntese de citocromo P450 (aumento da transcrição ou estabilização de RNA mensageiro) por exposição a fatores ambientais, ou (3) estabilização da enzima (apoproteína) já existente por exposição a um xenobiótico. Por outro lado, a diminuição da atividade das enzimas citocromo P450 pode resultar de (1) uma mutação que bloqueia a síntese de uma enzima CYP ou leva à síntese de uma enzima inativa ou cataliticamente comprometida, (2) exposição a um fator ambiental (como uma doença infecciosa ou um xenobiótico) que suprime a expressão da enzima citocromo P450, ou, (3) exposição a um xenobiótico que inibe ou inativa a enzima CYP pré-existente (Parkinson, 2001).

Até o momento são conhecidas 11 famílias do citocromo P450 humano, que incluem 30 enzimas ou citocromos diferentes e sabe-se da existência de aproximadamente 58 genes *CYP*. Porém, a maioria dos xenobióticos são metabolizados pelos genes das famílias *CYP1*, *CYP2* e *CYP3* e destes, os mais importantes na geração de metabólitos secundários capazes de induzir dano ao DNA são *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP2E1* e *CYP3A4* (Audi e Pussi, 2000; Gaspar, 2002).

As enzimas citocromo P450 microsossomais hepáticas de cada uma dessas famílias geralmente pertencem a uma única subfamília. Uma exceção notável é a família CYP2 que contém 5 subfamílias (*CYP2A*, *CYP2B*, *CYP2C*, *CYP2D* e *CYP2E*). O número de enzimas CYP em cada subfamília difere de uma espécie para outra (Parkinson, 2001). Os componentes do sistema P450 são:

- citocromo P450: componente primordial do sistema enzimático oxidativo. Foi assim denominado por Omura & Sato (1964), porque o complexo formado com o monóxido de carbono apresentava um pico de absorção espectrofotométrica no comprimento de onda 450 nm. Essa enzima apresenta um núcleo pirrólico com o átomo de ferro à semelhança da hemoglobina, sendo considerada uma hemoproteína;

- NADPH-citocromo P450 redutase ou NADPH-citocromo C redutase: enzima intermediária, flavoproteína, contendo quantidades equimolares de flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD). Um outro grupo enzimático, NADH-citocromo b5 redutase, acompanha o citocromo P450 e funciona como alternativa na transferência de elétrons, da fonte para o citocromo P450. Essas enzimas necessitam de um agente redutor, a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), e do oxigênio molecular. Consome-se uma molécula de oxigênio por molécula de substrato, com um átomo de oxigênio aparecendo no produto e o outro, na forma de água (Oga et al, 1988; Oga, 1996).

1.3.3 Polimorfismo genético no gene *CYP1A1*

O *CYP1A1* está localizado no cromossomo 15q22-q24 e contém sete exons. A enzima *CYP1A1* metaboliza vários xenobióticos, como as aminas aromáticas e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, gerando outras substâncias tóxicas (Corchero et al, 2001; Guengerich e Shimada 1998, Jaiswal e Nebert 1986, Nebert 1991). Colavecchia et al (2007) relataram a expressão do *CYP1A* no tecido endotelial ocular (lente e retina).

CYP1A1 é um dos três membros da família *CYP1*, que é encontrada principalmente em tecidos extra-hepáticos e participa no metabolismo de um vasto número de xenobióticos, bem como em um pequeno número de substratos endógenos. Entre as diferentes reações catalisadas pela enzima *CYP1A1*, está a adição de uma hidroxila em uma posição do anel aromático, que é considerada um marco para o início da carcinogênese, através da conversão de produtos altamente reativos que podem causar mutações em humanos (Buterin et al, 2000; Wei et al, 1996).

A ativação da transcrição do gene *CYP1A1* é mediada pela ligação de um xenobiótico, substrato da enzima *CYP1A1*, ao receptor citosólico (AhR – receptor aril hidrocarboneto) e também é mediada por sua translocação para o núcleo e subsequente formação de um dímero, que interage com os elemento de resposta ao xenobiótico correspondente para assim ativar a transcrição (Hankinson, 1995). Embora a via AhR de ativação de xenobióticos tenha sido bem estabelecida para um grande número de ligantes exógenos, o receptor parece participar de importantes processos de desenvolvimento e de regulação das células (Androutsopoulos et al, 2009).

O polimorfismo genético caracteriza-se pela presença de diferentes versões de uma sequência de DNA (alelos), em um determinado local cromossômico (locus) e encontra-se em uma frequência superior a 1% nos cromossomos da população em geral. Diferente do polimorfismo, o termo mutação se refere a qualquer mudança permanente na sequência de nucleotídeos ou DNA e ocorre em frequência inferior a 1% da população (Willard 2002).

Foram descritos na literatura dois polimorfismos associados ao gene *CYP1A1* o polimorfismo m1 (*CYP1A1*m1) ou *CYP1A1**2A, caracterizado pela transição T→C, no exon 7, na região 3' não codificadora criando um sítio de clivagem, o local da restrição da enzima *MspI*. O segundo polimorfismo, o m2 é caracterizado pela transição de A→G, que leva a substituição de um aminoácido valina por isoleucina no códon 462 (Li et al, 2005; Slattery et al, 2004).

Polimorfismos nos genes que codificam as enzimas da fase I e fase II que metabolizam xenobióticos estão associados com a susceptibilidade ao câncer de pulmão em vários estudos epidemiológicos (Demir et al, 2005). Sivaraman et al (1994) mostraram associação entre o polimorfismo *CYP1A1m1* e o aumento do risco de câncer colorretal. Souza (2011), estudou a relação do polimorfismo *CYP1A1m1* com a endometriose e encontrou maior frequência do alelo polimórfico (w1/m1 e m1/m1) em pacientes com quadro clínico mais severo da patologia. Os polimorfismos do gene *CYP1A1* mostraram associação com o aumento da atividade da enzima aril hidrocarboneto hidroxilase (AHH) e indução de genes, apesar de haver alguma discrepância na literatura (Hung et al, 2003).

O significado funcional da variação dos diferentes polimorfismos do gene *CYP1A1* não está clara. Estudos sobre *CYP1A1* em linfócitos humanos cultivados apresentaram níveis significativamente elevados de atividade induzível da enzima entre o alelo m2 em comparação com o genótipo selvagem (Li et al, 2004). Crofts e seus colaboradores (1994) relataram que o alelo m2 parece estar associado com a capacidade de indução do *CYP1A1* a nível da transcrição, seguido de elevação na atividade da enzima aril hidrocarboneto hidroxilase. O alelo m1 foi também notificado como sendo mais facilmente induzido do que o genótipo do tipo selvagem (Li et al, 2004). O polimorfismo de restrição MspI, parece promover aumento da expressão do *CYP1A1* (Arvanitis et al, 2001). Desse modo, diferenças genéticas na regulação, expressão e atividade dos genes de fases I e II pode ser o fator crucial na susceptibilidade a certos tipos de doenças, como o GPAA (Rossit et al, 2000).

Tem sido demonstrada correlação entre o polimorfismo, tabagismo e risco de câncer de pulmão. As pessoas que têm um alelo de alta “inducibilidade”, particularmente entre os tabagistas parecem correr um maior risco de desenvolver câncer de pulmão. Os dados indicam que o próprio tabagismo induz a expressão do gene *CYP1A1* (Marchand et al, 1998). Por outro lado, os homozigotos para o alelo recessivo de baixa inducibilidade demonstram ser menos propensos a desenvolver câncer de pulmão possivelmente por que sua AHH é menos eficiente, no que diz respeito a converter os hidrocarbonetos em carcinógenos altamente reativos (Cascorbi et al 1996). Estes polimorfismos genéticos no gene *CYP1A1* aumentam o risco do desenvolvimento de câncer de pulmão. No câncer colorretal ainda não há um consenso quanto à associação entre o polimorfismo e maior risco de desenvolvimento da doença (Inoue et al, 2000; Kampman et al, 1999; Sivaraman et al, 1994; Song et al, 2001).

1.3.4 Citocromo P450 e glaucoma

O *CYP1B1* se mostrou um modificador para o GPAA que, juntamente com mutações *MYOC*, agilizariam a progressão da doença que deixaria de ter início adulto para uma forma juvenil em um modo de herança digênica. No entanto, o mecanismo molecular subjacente que envolve estes dois genes na patogênese do glaucoma ainda não foi compreendido (Vincent et al, 2002). Um grande estudo conduzido em pacientes franceses com GPAA mostrou mutações no gene *CYP1B1* em 4,6% (11 de 236) dos pacientes estudados, com resultados negativos para mutações *MYOC* (Melki et al, 2004). Apesar do *CYP1B1* ser um gene comumente associado ao glaucoma congênito primário, mutações neste gene também têm sido associadas com glaucoma de ângulo aberto juvenil (JOAG) (Acharya et al, 2006).

Um produto do gene *CYP1B1* participa do metabolismo de muitos compostos, incluindo 17 β -estradiol. A perda da função da proteína é provavelmente o mecanismo genético básico, como a maioria das mutações são deleções, inserções ou mutações sem sentido que ocorrem em regiões do DNA causando alterações na proteína altamente conservada que são necessárias para seu funcionamento. Existe a hipótese de que alterações no metabolismo dos estrógenos pode ser a base para as anomalias oculares associadas com defeitos nesse gene. A maioria dos pacientes com glaucoma congênito causado por mutações no *CYP1B1* têm a forma grave da doença. Além disso, o metabólito ácido araquidônico citocromo P450-dependente inibe Na⁺, K⁺, -ATPase na córnea e pode regular a transparência da córnea e a produção do humor aquoso (Mahdy, 2010).

Até o momento, 12 genes foram identificados a partir de 29 loci gênicos que têm sido relacionados ao glaucoma. Os genes já identificados são responsáveis por uma pequena parte do total de casos de glaucoma (Fan et al, 2006; Fan e Wiggs, 2010; Wiggs, 2007), fato que ressalta a importância da descoberta de novos genes, principalmente nos loci já conhecidos. O presente trabalho faz parte de um projeto de busca de novos genes ligados ao GPAA. Um dos loci gênicos que tem sido relacionados a essa doença é o locus *GLC1I* localizado no cromossomo 15q11-13 (Mahdy, 2010), região próxima a do polimorfismo *CYP1A1m1* (15q22-24). O *CYP1A1* está envolvido na biotransformação de xenobióticos e o polimorfismo m1 leva a uma maior atividade enzimática (Arvanitis et al, 2001; Li et al, 2004). O polimorfismo *CYP1A1m1* tem sido alvo de diversos estudos e consequentemente, tem sido relacionado a várias doenças que são influenciada pela exposição a xenobióticos, assim como o GPAA (Demir et al, 2005; Sivaraman et al, 1994).

2. JUSTIFICATIVA

O termo glaucoma descreve um grupo heterogêneo de doenças oftálmicas que levam a atrofia do nervo óptico e a permanente perda da visão, afetam mais de 67 milhões de indivíduos em todo o mundo. Como o número de glaucomatosos aumenta exponencialmente com a idade, é esperado um consequente aumento do número de casos de glaucoma no futuro. É uma doença insidiosa e os pacientes afetados frequentemente não apresentam sintomas especialmente no seu estágio inicial. Quando detectados precocemente, a maioria dos casos podem ser tratados impedindo a progressão da doença e consequentemente seu agravamento (Quigley, 1996; Tuck e Crick, 1998).

O glaucoma primário de ângulo aberto é a forma mais comum da patologia e é uma das principais causas de cegueira irreversível, afetando mais de 33 milhões de pessoas no mundo (Quigley e Broman, 2006; Tielsch et al, 1991). Estudos populacionais mostram que um histórico familiar positivo é um importante fator de risco para GPAA (Leske et al, 1995; Tielsch et al, 1994). A participação de fatores hereditários no desenvolvimento do glaucoma foi inicialmente descrita por Benedict em 1842 que observou a ocorrência de famílias com a doença. Desde então, vários trabalhos vêm sendo feitos na tentativa de elucidar as bases genéticas desta doença.

Por isso a importância da identificação de novos genes modificadores que agiriam de forma a colaborar para o aparecimento da doença ou torná-la mais ou menos grave, isso é, identificar novos genes ou novas regiões do genoma associadas ao glaucoma primário de ângulo aberto em famílias brasileiras. Possibilitando uma melhor compreensão dos mecanismos por meio dos quais esta doença se desenvolve e melhores tratamentos e métodos diagnósticos, evitando um impacto sócio econômico grande na população brasileira.

Um dos loci gênicos que tem sido relacionados ao GPAA é o *GLC1I* localizado no cromossomo 15q11-13 (Mahdy, 2010). Este estudo visa analisar o envolvimento do polimorfismo *CYP1A1m1*, localizado do gene 15q22-24, como causador/fator de risco do GPAA, já que esse polimorfismo tem sido associado por muitos autores com xenobióticos e o câncer de pulmão. O polimorfismo *CYP1A1m1* não tem sido encontrado em estudos genéticos ou epidemiológicos relativos ao GPAA.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar o polimorfismo *CYP1A1m1* no grupo de portadores de glaucoma primário de ângulo aberto e no grupo controle, atendidos em uma clínica oftalmológica de Goiânia- GO.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a frequência dos genótipos (w1/w1, w1/m1 ou m1/m1) do polimorfismo *CYP1A1m1* em um grupo de pacientes com GPAA e em um grupo controle.
- Verificar se o polimorfismo *CYP1A1m1* apresenta correlação com a idade, gênero, etnia, tabagismo.
- Verificar se existe associação entre o polimorfismo gênico *CYP1A1m1* e o GPAA.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Casuística

O presente estudo é do tipo retrospectivo caso-controle. Foi coletado 10mL de sangue periférico de 152 pacientes, sendo que 100 deles foram diagnosticados como portadores de glaucoma primário de ângulo aberto e 52 pacientes com exame dentro dos padrões considerados normais, representando o grupo controle, atendidos na Pronto Clínica de Olhos em Goiânia. O presente estudo foi analisado e aprovado pelo Conselho de Ética e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Todos os pacientes responderam a um questionário sócio-econômico e os dados referentes ao paciente foram coletados em formulários próprios, juntamente com o seu consentimento informado e esclarecido (Anexos I, II, III e IV).

Os pacientes foram submetidos a exame oftalmológico completo, incluindo: acuidade visual com correção e sem correção, gonioscopia, biomicroscopia, fundoscopia, tonometria com tonômetro de aplanção de Goldmann; campimetria computadorizada Humphrey na estratégia sita-Standard 24-2, retinografia (disco óptico) e paquimetria.

Foram considerados critérios de inclusão para o grupo caso: 60% de escavação; pressão intra-ocular maior que 21mmHg; alterações campimétricas sugestivas de dano glaucomatoso; biomicroscopia com ausência de infecção; catarata ou cirurgias oftalmológicas prévias; gonioscopia com seio amplo (Shaffer grau quatro, ou seja, visualização de todas as estruturas do seio). Foram considerados critérios de inclusão para o grupo controle: escavação menor ou igual a 50% e ausência de assimetria; pressão intra-ocular menor que 21mmHg; campimetria e biomicroscopia normais; ausência de cirurgias oftalmológicas prévias e ausência de ângulo de seio aberto (Shaffer grau quatro) (Stamper, 1999; Susanna, 1999).

4.2 Extração de DNA genômico

Para extração de DNA genômico foi utilizado o kit Ilustra GFX (*GE Healthcare*, USA). A integridade do DNA foi certificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio (5µg/mL) e visualizado no Sistema de Vídeo Documentação VDS® (*Image Master VD® - Amersham Pharmacia Biotech*, USA). O DNA genômico foi mantido à temperatura de -20°C até a amplificação por PCR.

4.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As amostras de DNA foram submetidas à PCR para amplificação do gene *CYP1A1* e posterior digestão enzimática. Como controle interno de DNA humano foi utilizado o gene *ZFX/Y*. Os procedimentos para ambos os genes foram realizados em duplicata. Os primers estão resumidos na tabela I, as condições de termociclagem estão resumidas na tabela II e III e os protocolos de amplificação estão resumidos nas tabelas IV e V.

Tabela I: Sequência nucleotídica dos primers *CYP1A1* e *ZFX/Y*.

Primer	Sequência (5' - 3')	Tamanho do produto
<i>CYP1A1</i>	F: TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT	340 pb
	R: CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT	
<i>ZFX/Y</i>	F: ACC RCT GTA CTG ACT GTG ATT ACT C	495 pb
	R: GCA CYT CTT TGG TAT CYG AGA AAG T	

Mota et al, 2010; Simoni et al, 2004.

Tabela II: Protocolo de Termociclagem para amplificação dos primers *CYP1A1*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação inicial	94°C	5	1
Desnaturação	94°C	1	
Anelamento	56°C	1	30
Extensão	72°C	1,5	
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C	∞	

O produto obtido em cada reação em cadeia da polimerase foi posteriormente submetido à eletroforese em gel de agarose a 2%, em um campo elétrico de 10 V/cm, corado com brometo de etídio (5µg/mL) e o registro visual do gel feito com o auxílio do aparelho de Vídeo Documentação VDS® (*Image Master VD® - Amersham Pharmacia Biotech, USA*).

Tabela III: Protocolo de Termociclagem para amplificação dos primers ZFX/Y.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação inicial	95°C	5	1
Desnaturação	95°C	1	
Anelamento	55°C	0,5	35
Extensão	72°C	1	
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C	∞	

Tabela IV: Protocolo para a amplificação do gene *CYP11A1*.

Reagentes	[] reagentes	Volume para 1 amostra
Tampão (5x)	1X	5,0 µl
MgCl ₂ (25mM)	1,5 mM	1,5 µl
dNTPs	1,25 mM de cada	4,0 µl
Taq polimerase 5 U/µl	2,5 U/µl	0,2 µl
Primer sense	0,02 mM	0,5 µl
Primer antisense	0,02 mM	0,5 µl
H ₂ O Mili Q	---	10,3 µl
DNA amostra	200 ng/µL	3,0 µl
Volume final		25,0 µl

Tabela V: Protocolo para a amplificação do gene *ZFX/Y*.

Reagentes	[] reagentes	Volume para 1 amostra
Tampão (5x)	1X	5,0 µl
MgCl ₂ (25mM)	1,5 mM	1,5 µl
dNTPs	1,25 mM de cada	4,0 µl
Taq polimerase 5 U/µl	2,5 U/µl	0,2 µl
Primer sense	0,02 mM	0,5 µl
Primer antisense	0,02 mM	0,5 µl
H ₂ O Mili Q	---	10,3 µl
DNA amostra	200 ng/µL	3,0 µl
Volume final		25,0 µl

4.4 Polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP)

A técnica PCR-RFLP foi utilizada para detecção do polimorfismo *CYP1A1m1*. Os fragmentos amplificados através da PCR foram avaliados por meio da digestão enzimática com a enzima de restrição *MspI* pronta para uso (Fermentas, CN). O protocolo da digestão enzimática está resumido na tabela VI.

Tabela VI: Reagentes utilizados no processo de restrição enzimática e as concentrações utilizadas.

Reagentes	Volume para 1 amostra
Tampão da enzima	4,0 μ L
Enzima de restrição <i>MspI</i>	1,0 μ L
Água MiliQ	10,0 μ L
PCR	15,0 μ L
Volume total	30,0 μ L

A mistura dos reagentes utilizados para a digestão enzimática permaneceu à 37°C durante 12 horas para a análise do polimorfismo *CYP1A1m1*. Os fragmentos foram avaliados em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídeo. O fragmento para o alelo selvagem m1(w1/w1) foi de 340 pb, o heterozigoto (w1/m1) apresentou fragmentos de 340pb, 200pb e 140pb, e homozigoto mutante (m1/m1) de 200pb e 140pb (Tabela VII).

Tabela VII: Sequência de clivagem e tamanho dos fragmentos esperados.

Enzima de restrição	Sequência de reconhecimento	Tamanho do produto
<i>MspI</i>	5' - C*CGG - 3'	340 pb (Homozigoto selvagem)
	3' - GGC*C - 5'	140 pb e 200 pb (Homozigoto mutante)
		140 pb, 200 pb e 340 pb (Heterozigoto)

*Sítio de clivagem

4.5 Análise dos resultados

As idades entre os grupos foram comparadas através do teste de Mann-Whitney. O teste qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para comparar a distribuição dos diferentes genótipos no grupo caso e no grupo controle. O *software* utilizado para a realização dos testes estatísticos foi o Bioestat versão 5.0. O cálculo de probabilidade de associação entre as características analisadas foi feito através do teste de Fisher. O Odds Ratio (OR) e seus

intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados com a finalidade de avaliar a intensidade da associação entre os grupos glaucoma e controle. Valores de p menores que 0,05 foram considerados significantes.

5. RESULTADOS

Os fragmentos obtidos após a ingestão enzimática foram submetidos a eletroforese em em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídeo (figura 6).

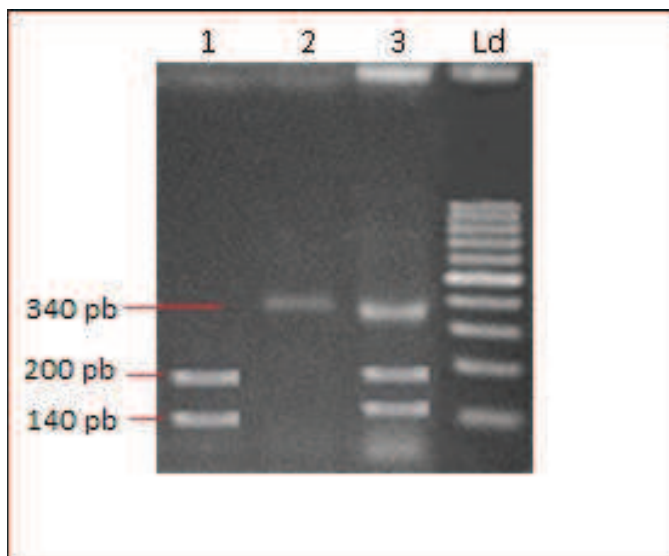


Figura 6: Gel de agarose 2% mostrando digestão enzimática para o polimorfismo *CYP1A1m1*. Nas colunas de 1 a 3 estão amostras de pacientes que foram submetidas a digestão enzimática com enzima *MspI*. O paciente 1 é homocigoto mutante *m1/m1* (200 e 140pb), paciente 2 homocigoto selvagem *w1/w1* (340pb) e o paciente 3 é heterocigoto *w1/m1* (340, 200 e 140pb). O padrão de peso molecular (Ld) utilizado nesta análise foi de 100pb.

Os pacientes estudados foram divididos em dois grupos: grupo glaucoma composto por pacientes portadores de GPAA e o grupo controle composto por pacientes não portadores de GPAA. O grupo estudado foi composto por 152 pacientes, sendo que 100 (66%) pacientes pertenciam ao grupo caso e 52 (34%) pertenciam ao grupo controle.

Do total de 152 amostras analisadas, o grupo glaucoma (n=100) apresentou idade média de 60,4 anos com desvio-padrão (DP) de 15,8, e o grupo controle apresentou idade média de 44,4 anos e DP de 16,0. Através do teste U de Mann Whitney foi possível observar a homogeneidade entre os grupos glaucoma e o grupo controle, portanto a diferença entre as idades dos grupos é estatisticamente significativa (p=0,0001) (tabela VIII).

Foi realizada avaliação da frequência dos alelos *w1/w1*, *w1/m1* e *m1/m1* nos grupos glaucoma e controle, os resultados dessa avaliação estão apresentados na tabela IX. A presença do genótipo *w1/w1* foi encontrada em 16% (n=16) dos pacientes do grupo glaucoma e em 54% (n=28) dos pacientes do grupo controle. Foi encontrado 77% (n=77) do genótipo

w1/m1 no grupo glaucoma e 46% (n=24) no grupo controle; 7% (n=07) de m1/m1 no grupo glaucoma e 0% (n=0) no grupo controle. A frequência do genótipo w1/w1 foi aproximadamente o triplo no grupo controle (54%) comparado ao grupo com glaucoma (16%), sendo esta diferença estatisticamente significativa (p=0,0001).

Tabela VIII: Comparação da idade média entre o grupo glaucoma e o grupo controle.

Grupo	Idade Média	DP	*P
Glaucoma (n=100)	60,4	15,8	0,0001
Controle (n=52)	44,4	16,0	

*Valor de P do teste U de Mann Whitney, $P \leq 0,05$.

Tabela IX: Frequência dos genótipos w1/w1, w1/m1 e m1/m1 do gene *CYP1A1* entre os grupos glaucoma e controle.

Variável	Glaucoma		Controle		*P
	%	N	%	N	
w1/w1	16	16	54	28	
w1/m1	77	77	46	24	0,0001
m1/m1	7	07	0	00	
Total	100,0	100	100,0	52	

*P valor do teste χ^2 .

A tabela X mostra a distribuição genotípica entre o sexo masculino e o sexo feminino nos diferentes grupos estudados. Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos do sexo feminino, 12 % (n=6) do grupo glaucoma apresentam genótipo w1/w1 e 88% (n=42) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto 59% (n=20) das pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo w1/w1 e 41% (n=14) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1. Nas mulheres, a presença dos genótipos w1/m1 + m1/m1 foi 2 vezes maior no grupo glaucoma (88%) em relação ao grupo controle (41%), sendo essa diferença estatisticamente significativa (p<0,0001 e OR=0,1000 (0,0335-0,2988)).

Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos do sexo masculino, 17% (n=09) destes pertencem ao grupo glaucoma apresentam o genótipo w1/w1 e 83% (n=43) apresentam os genótipo w1/m1+m1/m1. No grupo controle 44% (n=8) apresentam o genótipo w1/w1 e 56% (n=10) apresentam o genótipo w1/m1+m1/m1. Nos homens, a frequência do genótipo w1/w1 foi 2,75% maior no grupo controle (44%) do que no grupo glaucoma (17%), sendo essa diferença estatisticamente significativa (P=0,0259 e OR=0,2616 (0,0808-0,8472)).

Tabela X: Distribuição genotípica entre os gêneros nos grupos estudados.

Grupo	Feminino				*P	OR	Min	Max
	Glaucoma		Controle					
	%	N	%	N				
w1/w1	12	6	59	20				
w1/m1 + m1/m1	88	42	41	14	<0.0001	0,1000	0,0335	0,2988
Total	100,0	48	100,0	34				

Grupo	Masculino				*P	OR	Min	Max
	Glaucoma		Controle					
	%	N	%	N				
w1/w1	17	9	44	8				
w1/m1 + m1/m1	83	43	56	10	0,0259	0,2616	0,0808	0,8472
Total	100,0	52	100,0	18				

*Valor de P do teste Exato de Fisher.

A tabela XI mostra a distribuição genotípica entre pacientes caucasóides, mongolóides e negróides nos diferentes grupos estudados. Em relação ao grupo glaucoma, 09 pacientes não informaram a qual grupo racial pertencem e também 02 pacientes do grupo controle. Foram considerados como indivíduos negróides aqueles que se classificaram como negros e pardos.

Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos caucasóides, 19% (n=13) dos indivíduos pertencentes ao grupo glaucoma apresentam genótipo w1/w1 e 81% (n=55) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto 58% (n=23) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo w1/w1 e 42% (n=17) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1. Nos indivíduos caucasóides a frequência do genótipo w1/w1 no grupo controle é 3 vezes maior que no grupo glaucoma, sendo esse resultado estatisticamente significativo (p=0,0001 e OR=0,1747 (0,0731-0,4174)).

Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos mongolóides, nenhum indivíduo pertencente ao grupo glaucoma apresenta genótipo w1/w1 e 100% (n=03) desses indivíduos apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto nenhum indivíduo pertencente ao grupo controle apresenta os genótipos w1/w1 e w1/m1+m1/m1. Nos indivíduos mongolóides a diferença entre o genótipo do polimorfismo MspI e o grupo a que pertencem não é estatisticamente significativo (p=1,0000).

Tabela XI: Distribuição genotípica entre caucasoídes e negróides nos diferentes grupos estudados.

Grupos	Glaucoma		Controle		*P	OR	Min	Max
	Caucasoíde		Caucasoíde					
Variáveis	%	N	%	N				
w1/w1	19	13	58	23				
w1/m1 + m1/m1	81	55	42	17	0,0001	0,1747	0,0731	0,4174
Total	100	68	100	40				
	Mongolóide		Mongolóide					
w1/w1	0	0	0	0	1,0000	-	-	-
w1/m1 + m1/m1	100	3	0	0				
Total	100	3	0	0				
	Negróide		Negróide					
w1/w1	5	1	50	5				
w1/m1 + m1/m1	95	20	50	5	0,0075	0,0500	0,0045	0,5296
Total	100	21	100	10				

*Valor de P do teste Exato de Fisher.

Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos negróides, 5% (n=01) dos indivíduos pertencentes ao grupo glaucoma apresentam genótipo w1/w1 e 95% (n=20) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto 50% (n=05) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo w1/w1 e 50% (n=05) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1. A frequência do genótipo w1/m1 + m1/m1 em negróides no grupo glaucoma (95%) foi de quase 2 vezes maior do que em negróides no grupo controle (50%), sendo esta diferença estatisticamente significativa (p=0,0075 e OR=0,0500 (0,0045-0,5296)).

A tabela XII mostra a distribuição genotípica entre pacientes tabagistas ou não nos grupos estudados. No grupo glaucoma 04 pacientes não prestaram informações sobre o tabagismo. Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos tabagistas, 17 % (n=01) dos indivíduos pertencentes ao grupo glaucoma apresentam genótipo w1/w1 e 83% (n=05) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto 50% (n=01) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo w1/w1 e 50% (n=01) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1. Nos indivíduos que são tabagistas, a diferença entre o genótipo do

polimorfismo MspI e o grupo a que pertencem não é estatisticamente significativa ($p=0,4643$ e $OR=0,0200$).

Tabela XII: distribuição genotípica entre pacientes tabagistas ou não nos grupos estudados.

Grupos Variáveis	Tabagismo				*P	OR	Min	Max
	Sim		Sim					
	Glaucoma	Controle	Glaucoma	Controle				
	%	N	%	N				
w1/w1	17	1	50	1	0,4643	0,2000	-	-
w1/m1 + m1/m1	83	5	50	1				
Total	100	6	100	2				
	Não		Não					
	Glaucoma		Controle					
	%	N	%	N				
w1/w1	16	14	55	27	<0.0001	0,1501	0,0674	0,3344
w1/m1 + m1/m1	84	76	45	22				
Total	100	90	100	49				

*Valor de P do teste Exato de Fisher.

Analisando o polimorfismo *CYP1A1m1* nos indivíduos não tabagistas, 16% ($n=14$) do grupo glaucoma apresentam genótipo w1/w1 e 84% ($n=76$) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1; enquanto 55% ($n=27$) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo w1/w1 e 45% ($n=22$) apresentam os genótipos w1/m1+m1/m1. A frequência do genótipo w1/w1 em pacientes não tabagistas no grupo controle (55%) foi 3,44 vezes maior do que no grupo glaucoma (16%), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p<0,0001$ e $OR=0,1501$ (0,0674-0,3344)).

6. DISCUSSÃO

Grande parte dos casos de GPAA têm uma base genética complexa e podem ser causados pela combinação de fatores de risco genéticos e ambientais, cada um dos quais não atuam sozinhos na causa do glaucoma. Tanto os fatores genéticos quanto os ambientais são freqüentemente detectados em pacientes com GPAA, mas podem também ser observados em indivíduos que não apresentam a doença. Genes que podem ser importantes na patogênese GPAA têm sido investigados. Diferentes abordagens para o estudo da genética desse tipo de glaucoma oferecem novas percepções sobre a patogênese da doença (Fingert, 2011).

Recentes estudos do GPAA na população caucasóide americana demonstraram evidências da suscetibilidade da ligação da doença ao locus *GLC1I* no cromossomo 15q (Allingham et al, 2005; Woodroffe et al, 2006). Nemesure et al (2003) encontraram associação entre regiões do cromossomos 2 e 10 e o GPAA. Africanos ocidentais que apresentavam PIO elevada foram selecionados para um estudo no qual foram encontrados novos loci nos cromossomos 5q e 14q (Rotimi, 2006). Pelo fato desses estudos terem sido realizados com um grande número de famílias afetadas pelo glaucoma de início tardio, os genes localizados nos cromossomos acima citados são prováveis fatores de risco para o GPAA. Abordagens baseadas em polimorfismo de nucleotídeo único têm se mostrado bem sucedidas quando relacionados à doenças complexas (Haines et al, 2005; Edwards et al, 2005; Klein et al, 2005; Hageman et al, 2005), e a aplicação desse tipo de abordagem ao GPAA de início tardio é o foco dos estudos atuais.

Existe variação da prevalência do GPAA em relação à etnia, faixa etária e localização geográfica da população estudada (Bengtsson, 1981; Mason et al, 1989; Shiose et al, 1991; Tielsch et al, 1991; Klein et al, 1992; Coffey et al, 1993; Dielemans et al, 1994; Leske et al, 1994; Mitchell et al, 1996).

GPAA é uma doença crônica e relacionada à idade. Por isso sua prevalência tende a aumentar em países com uma população crescente de idosos e a doença é muitas vezes assintomática (Khandekar et al, 2008). O GPAA adulto ou tardio é o glaucoma que se manifesta acima dos 40 anos de idade, vários trabalhos na literatura sugerem uma associação positiva entre idade avançada e glaucoma (Johnson et al, 1996; Pekmezci et al, 2009; Tuck e Crick, 1998).

Le et al (2003) mostraram risco significativo de glaucoma de ângulo aberto após 60 anos de idade e aumento do risco a cada década de vida subsequente. Resultados similares

foram observados no Estudo de Incidência de Barbados (Leske et al, 2001) e em numerosos estudos de prevalência (Weih et al, 2001; Hollows e Graham , 1966; Mitchell et al,1996; Dielemans et al, 1994; Leske et al, 1995). O aumento da idade pode refletir os efeitos cumulativos de alguns outros fatores que causam o envelhecimento da cabeça do nervo óptico levando a maior vulnerabilidade à pressão intra-ocular, até mesmo em níveis normais (Sommer, 1996; Eid e Spaeth, 2000). Em nosso trabalho verificamos que os pacientes com glaucoma apresentaram idade média de 60 anos.

Polimorfismos são elementos essenciais na prática da genética humana e na pesquisa, já que são a base para que a medicina consiga fornecer cuidados personalizados. As variantes polimórficas que aumentam ou diminuem o risco para doenças comuns na fase adulta, podem servir de base para diagnóstico, prevenção ou mesmo terapêutica, influenciando na eficácia ou segurança de medicações específicas (Jones et al, 2007).

Santos (2009) verificou que o polimorfismo *CYP1A1m1* está relacionado a uma maior suscetibilidade à doença de Graves, esta é uma das mais comuns doenças auto-imunes humanas, caracteriza-se pela presença de bócio difuso, sinais e sintomas de hipertiroidismo, podendo ocorrer manifestações extratiroidianas, como oftalmopatia (Hollowell et al, 2002; Weetman, 2003). Quanto à distribuição do polimorfismo *CYP1A1m1*, Santos (2009) observou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo que apresentava presença e o que apresentava ausência da oftalmopatia de Graves. Em nosso trabalho quase o dobro do número de pacientes do grupo GPAA apresentaram alelo polimórfico m1 (em heterozigose ou homozigose) do gene *CYP1A1* (84%), sendo portanto uma diferença estatisticamente significativa. Resultado que mostra a importância de estudos posteriores sobre o polimorfismo *CYP1A1m1* e o GPAA, já que o nosso é o primeiro trabalho que busca estudar essa relação.

Al-Mansouri et al (2011) observaram maior incidência de glaucoma em pacientes do sexo masculino em relação ao sexo feminino, no entanto esse não foi um fator de risco estatisticamente significativo para o glaucoma entre os participantes desse mesmo estudo. Le et al (2003) mostrou que o desenvolvimento do GPAA não esteve relacionado ao gênero, resultados que corroboram observações feitas em um estudo sobre GPAA por Rudnicka et al (2006). Honma (2007) não detectou associação do polimorfismo *CYP1A1m1* em relação ao gênero em um estudo sobre câncer de pulmão.

Entretanto, Cedrone et al (2008) observaram alta prevalência do glaucoma em pacientes do sexo feminino, assim como um estudo realizado em Dalby na Suécia (Bengtsson, 1989). Esta falta de consenso em relação aos resultados já havia sido mostrada anteriormente em estudos realizados por Dielemans et al (1994) na Espanha, Mitchell et al (1996) na

Austrália e Leske et al (1995) em Barbados. Em nosso estudo, pacientes do sexo feminino do grupo GPAA apresentaram maior prevalência do polimorfismo *CYP1A1m1* em relação a pacientes do sexo masculino.

Foi observada prevalência do GPAA entre 0,8% e 3,0% em caucasóides com mais de 40 anos (Bengtsson, 1981; Tielsch et al, 1991; Klein et al, 1992; Coffey et al, 1993; Dielemans et al, 1994; Leske et al, 1994; Mitchell et al, 1996), em indivíduos negróides com idade acima de 30 anos entre 4,74% e 8,8% (Mason et al, 1989; Tielsch et al, 1991; Leske et al, 1994) e uma prevalência de 2,6% na população japonesa acima de 40 anos (Shiose et al 1991). Um estudo realizado em Baltimore (Estados Unidos) revelou que pacientes negróides apresentavam taxas de prevalência de GPAA três a quatro vezes maiores do que os pacientes caucasóides (Tielsch et al, 1991).

Em estudo sobre o papel dos polimorfismos *CYP1A1m1*, Honma (2007) encontrou uma frequência maior do genótipo w1/w1 em pacientes caucasóides do que em afro-brasileiros. Em nosso estudo a frequência do genótipo w1/w1 do polimorfismo *CYP1A1m1* também foi maior em pacientes caucasóides (19%) do que nos pacientes negróides (5%); sendo que os genótipos w1/m1 e m1/m1 somados foram encontrados com maior frequência em negróides (95%) do que em caucasóides (81%). Em nosso estudo não foi observado resultado estatisticamente significativo em mongolóides, observamos em 100% dos pacientes portadores de GPAA o polimorfismo *CYP1A1m1* apresentando mutação (w1/m1 + m1/m1), número justificado pela pequena quantidade de pacientes portadores de GPAA que declararam pertencer à etnia mongolóide (n=3).

O Brasil apresenta uma população com grande heterogeneidade, composta em grande parte por indivíduos miscigenados. A classificação de fenótipo extrapolando para o genótipo é utilizada em todo o mundo. O IBGE sugere que o indivíduo defina sua cor de pele, mas se utilizarmos este critério mundial teríamos erro genotípico, pois fenotipicamente o brasileiro é muito mais complexo que a mera classificação genotípica. Curiosamente a imensa maioria dos brasileiros caucasóides (pele clara) apresenta patrilinhagens de origem européia, e matrinhagens de origem ameríndia ou africana (Alves-Silva et al, 2000; Carvalho-Silva et al, 2001; Pena et al, 2000).

Em nosso estudo os resultados encontrados no grupo GPAA em caucasóides e negróides são estatisticamente significantes em relação ao grupo controle. As frequências do polimorfismo *CYP1A1m1* mostraram extensa variação étnica, observando valores de 31% a 12% entre japoneses e populações caucasóides, respectivamente (Nebert et al, 1996).

Em uma população indiana com câncer de pulmão realizou-se um estudo em que foi observado uma alta frequência para o gene *CYP1A1* em heterozigose e homozigose na forma variante (Sreeja et al, 2005), os mesmos resultados foram observados em estudo chinês por Song et al (2001) e por Sobti et al (2003) em uma população do norte da Índia. Honma et al (2007) não observaram relação entre a maior susceptibilidade para o câncer de pulmão e o polimorfismo *CYP1A1m1*. Dessa forma é grande a possibilidade de que esse gene esteja associado com o câncer de pulmão de populações asiáticas e indianas (Kawajiri et al, 1990; Garte et al, 2001).

A enzima CYP1A1 é considerada primariamente uma enzima extra-hepática em humanos, sendo induzida no pulmão, linfócitos e placenta após exposição aos HAPs (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), incluindo aqueles presentes na fumaça do cigarro (Anttilla et al, 1993). O relatório de 2004 do Surgeon General sobre tabagismo concluiu que existe uma relação causal entre o tabagismo e catarata, e sugere uma possível relação entre tabagismo e glaucoma.

No estudo do olho de Beaver Dam (Klein et al, 1993) foi observada pequena importância do tabagismo em relação ao GPAA, mesmo resultado apresentado por Bonovas et al (2004) que mostraram existir probabilidade de fumantes e ex-fumantes desenvolverem GPAA. No entanto, Edwards et al (2008) concluíram que há pouca evidência de que exista uma associação ao acaso entre tabagismo e o desenvolvimento de GPAA. Já os resultados de Zhang et al (2011) não mostraram associação significativa entre o glaucoma e o tabagismo.

Não observamos resultados estatisticamente significativos nos pacientes tabagistas. Já nos pacientes não tabagistas, observamos a frequência do polimorfismo *CYP1A1m1* 1,86 vezes maior no grupo glaucoma em relação ao grupo controle, sendo um resultado estatisticamente significativo. Não foi considerado o fato dos pacientes estudados serem fumantes passivos ou não, a frequência com que a pessoa fuma, o fato dela ter parado de fumar. A simples exposição à fumaça do cigarro (fumante passivo) pode ser um fator de risco para o GPAA (Lois et al, 2008).

7. CONCLUSÃO

- Nossos resultados indicaram que houve uma diferença significativa da presença do polimorfismo *CYP1A1m1* no grupo de pacientes com GPAA e no grupo controle.
- A frequência do genótipo selvagem w1/w1 foi aproximadamente 3,37 vezes maior no controle que no grupo de pacientes com GPAA.
- A frequência dos genótipos polimórficos w1/m1 e m1/m1 nos pacientes do grupo glaucoma foi aproximadamente 1,83 vezes maior que no grupo controle.
- A frequência de pacientes pertencentes ao grupo glaucoma do sexo feminino que apresentaram genótipos polimórficos (w1/m1 e m1/m1) foi de 88% e de pacientes do sexo masculino que apresentaram genótipos polimórficos (w1/m1 e m1/m1) foi de 83%.
- A frequência de genótipos polimórficos (w1/m1 e m1/m1) em pacientes caucásoides foi aproximadamente 1,93 vezes maior no grupo glaucoma do que no grupo controle.
- A frequência de genótipos polimórficos (w1/m1 e m1/m1) em pacientes negróides foi aproximadamente 1,90 vezes maior no grupo glaucoma do que no grupo controle.
- A frequência de genótipos polimórficos (w1/m1 e m1/m1) em pacientes não tabagistas foi aproximadamente 1,87 vezes maior no grupo glaucoma do que no grupo controle.
- Foi observada correlação estatisticamente significativa entre o GPAA e o polimorfismo *CYP1A1m1*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acharya M, Mitra S, Mukhopadhyay A, Khan M, Roychoudhury S, Ray K. Distribution of p53 codon 72 polymorphism in Indian primary open angle glaucoma patients. *Molecular Vision*. 8:367-371. 2002.
2. Acharya M, Mookherjee S, Bhattacharjee A, Bandyopadhyay AK, Thakur SKD, Bhaduri G, Sen A, Ray K. Primary role of *CYP1B1* in Indian juvenile-onset POAG patients. *Molecular Vision*. 12:399-404. 2006.
3. Acharya M, Mukhopadhyay A, Bhattacharjee A, Thakur SKD, Bandyopadhyay AK, Ray K. Complex genetics of glaucoma: defects in *CYP1B1*, and not *MYOC*, cause pathogenesis in an early-onset POAG patient with double variants at both loci. *Journal of Genetics*. December; 87(3):265-269. 2008.
4. Adam, MF, Belmouden A, Binisti P, Brezin AP, Valtot F, Bechettille A, Dascotte, JC, Copin B, Gomez L, Chaventre A, Bach JF, Garchon HJ. Recurrent mutations in a single exon encoding the evolutionarily conserved olfactomedin-homology domain of TIGR in familial open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet*. 6, 2091–2097. 1997.
5. Allingham RR, Wiggs JL, Hauser ER, Larocque-Abramson KR, Santiago-Turla C, Broomer B, Del Bono EA, Graham FL, Haines JL, Pericak-Vance MA, Hauser MA. Early adult-onset POAG linked to 15q11-13 using ordered subset analysis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 46:2002-2005. 2005.
6. Al-Mansouri FA, Kanaan A, Gamra H, Khandekar R, Hashim SP, Al Qahtani O, Ahmed MF. Prevalence and Determinants of Glaucoma in Citizens of Qatar Aged 40 Years of Older: A Community-Based Survey. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 18(2):141-9. 2011.
7. Alves-Silva J, Santos MS, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt H, Pena SDJ, Prado VF. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet*. 67:444-461. 2000.

8. Alward WL, Fingert JH, Coote MA, Johnson AT, Lerner SF, Junqua D, Durcan FJ, McCartney PJ, Mackey DA, Sheffield VC, Stone EM. Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (*GLCIA*). *N. Engl. J. Med.* 338, 1022–1027. 1998.
9. Anderson DR. Collaborative normal tension glaucoma study. *Curr Opin Ophthalmol* 14(2):86-90. 2003.
10. Anderson DR. The development of the trabecular meshwork and its abnormality in primary infantile glaucoma. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 79:458–85. 1981.
11. Androutsopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Cytochrome P450 *CYP1A1*: wider roles in cancer progression and prevention. *BMC Cancer.* 9:187. 2009.
12. Angius, A., De Gioia, E., Loi, A., Fossarello, M., Sole, G., Orzalesi, N., Grignolo F, Cao A, Pirastu M. A novel mutation in the *GLCIA* gene causes juvenile open-angle glaucoma in 4 families from the Italian region of Puglia. *Arch. Ophthalmol.* 116, 793–797. 1998.
13. Antila S, Hirvonen A, Vainio H, Husgafvel- Pursiainen K, Hayes JD, Ketterer B. Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung. *Cancer Res.* 53: 5643- 5648. 1993.
14. Arvanitis DA, Goumenou AG, Matalliotakis IM, Komantakis EE, Spandidos DA. Low penetrance genes are associated with increased susceptibility to endometriosis. *Fertil Steril.* 76:1202-1206. 2001.
15. Audi EA, Pussi FD. Isoenzimas do CYP450 e biotransformação de drogas. *Acta Scientiarum.* 22 (2): 599604. 2000.
16. Barbosa AM. Estudo do polimorfismo GSTM1 de presença/ausência em pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto. Dissertação em andamento de conclusão do curso de Biologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Comunicação pessoal, 2011.

17. Beaglehole R, Bonita R. Public health at the crossroads: achievements and prospects. Cambridge, Cambridge University Press, 2004.
18. Benedict, T.W.G. Abhandlungen aus dem Gebiete der Augenheilkunde. Freunde, Breslau, Poland. 1842.
19. Bengtsson B. Incidence of manifest glaucoma. Br J Ophthalmol. 73:483–487. 1989.
20. Bengtsson, B. The prevalence of glaucoma. Br. J. Ophthalmol. 65:46-49. 1981.
21. Biblioteca virtual em saúde. Disponível em: <http://www.hosb.com.br/especial/glaucoma002.jpg> Acesso em: 06/07/2011.
22. Boland MV, Quigley HA. Risk factors and open-angle glaucoma: classification and application. J Glaucoma. 16(4):406-418. 2007.
23. Bonovas S, Filioussi K, Tsantes A, Peponis V. Epidemiological association between cigarette smoking and primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. Public Health. 118(4):256-61. 2004.
24. Burgoyne CF, Downs JC, Bellezza AJ, Suh JK, Hart RT. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. Prog Retin Eye Res. 24(1): 39-73. 2005.
25. Buterin T, Hess MT, Luneva N, Geacintov NE, Amin S, Kroth H, Seidel A, Naegeli H. Unrepaired fjord region polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in ras codon 61 mutational hot spots. Cancer Res. 60:1849-1856. 2000.
26. Carvalho-Silva D, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ. The phylogeography of Brazilian y-chromosome lineages. Am J Hum Genet. 68:281-286. 2001.

27. Cascorbi I, BroVkmöller J, Roots IA. 4887 polymorphism in exon 7 of human mutations linkages, and impact on lung cancer susceptibility. *Cancer Research*. 56:4965-69. 1996.
28. Cedrone C, Mancino R, Cerulli A, Cesareo M, Nucci C. Epidemiology of primary glaucoma: Prevalence, incidence, and blinding effects. *Prog Brain Res*. 173:3-14. 2008.
29. Chavarría-Soley G, Rautenstrauss B, Azofeifa J. Glaucoma in Costa Rica. Initial approaches. *Rev. Biol. Trop*. 52 (3): 507-520. 2004.
30. Chavarría-Soley G. Genome-wide identification and characterization of well-defined genes involved in glaucoma and pterygium corneae. Tese de Doutorado - Faculdades de Ciências Naturais, Universidade Friedrich-Alexander Erlangen, Nuremberg-Alemanha, 2008.
31. Chen P, Tian J, Kovesdi I, Bruder JT. Interaction of the adenovirus 14.7-kDa protein with FLICE inhibits Fas ligand-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 273(10):5815-5820. 1998.
32. Cheng AC, Pang CP, Leung AT, Chua JK, Fan DS, Lam DS. The association between cigarette smoking and ocular diseases. *Hong Kong Med J*. 6(2):195-202. 2000.
33. Choudhary D, Jansson I, Schenkman JB. *CYP1B1*, a developmental gene with a potential role in glaucoma therapy. *Xenobiotica*. 39(8): 606–615. 2009.
34. Coffey M, Reidy A, Wormald R, Xian WX, Wright L, Courtney P. Prevalence of glaucoma in the west of Ireland. *Br. J. Ophthalmol*. 77:17-21. 1993.
35. Colavecchia MV, Hodson PV, Parrott JL. The relationships among CYP1A induction, toxicity, and eye pathology in early life stages of fish exposed to oil sands. *J Toxicol Environ Health A*. 70(18):1542-55. 2007.
36. Congdon N, Wang F, Tielsch JM. Issues in the epidemiology and population-based screening of primary angle-closure glaucoma. *Survey of ophthalmology*. 36: 411-423.1992.

37. Corchero J, Pimprale S, Kimura S, Gonzalez FJ. Organization of the CY1A cluster on human chromosome 15: implications for the gene regulation. *Pharmacogenetics*. 11:1-6. 2001.
38. Crofts F, Taioli E, Trachman J, Cosma GN, Currie D, Toniolo P, Garte SJ. Functional significance of different human *CYP1A1* genotypes. *Carcinogenesis*. 15:2961-2963. 1994.
39. Demir A, Demir I, Altin S, Köksal V, Çetinçelik U, Dinçer SI. *GSTM1* Gene Polymorphisms on Lung Cancer Development in the Turkish Population. *Turkish Respiratory Journal*. 6:(3):131-134. 2005.
40. Dickens CJ, Hoskins HDJ. Epidemiology and pathophysiology of congenital glaucoma. In: Ritch R, Shields BM, Krupin T. *The glaucomas*. 2nd ed. St Louis: Mosby; 1996. p. 729-738.
41. Dielemans I, Vingerling JR, Wolfs RCW, Hofman A, Grobbee DE, De Jong PTVM. The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in the Netherlands : the Rotterdam Study. *Ophthalmology*, 101:1851-1855. 1994.
42. Distelhorst JS, Hughes GM. Open-angle glaucoma. *Am Fam Physician*. 67:1937– 1944. 2003.
43. Douglas, GR. Pathogenetic mechanisms of glaucoma not related to intraocular pressure *Curr Opin Ophthalmol* 9 , 34 -38. 1998.
44. Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat. Genet*. 33: 357-365. 2003.
45. Edwards AO, Ritter R III, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science*. 308:421-424. 2005.
46. Edwards R, Thornton J, Ajit R, Harrison RA, Kelly SP. Cigarette smoking and primary open angle glaucoma: a systematic review. *J Glaucoma*. 17(7):558-66. 2008.

47. Eid TM, Spaeth GL. *The Glaucomas: Concepts and Fundamentals*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p.1–8:89–103. 2000.
48. Fan BJ, Wang DY, Lam DS, Pang CP. Gene mapping for primary open angle glaucoma. *Clin Biochem*. 39(3):249-258. 2006.
49. Fan BJ, Wiggs JL. Glaucoma: genes, phenotypes, and new directions for therapy. *J Clin Invest*. September; 120(9): 3064–3072. 2010.
50. Fan DS, Lam DS, Lam RF, Lau JT, Chong KS, Cheung EY, Lai RY, Chew SJ. Prevalence, incidence, and progression of myopia of school children in Hong Kong. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45:1071-5. 2004.
51. Fingert JH. Primary open-angle glaucoma genes. *Eye* 25, 587-595. 2011.
52. Fingert JH, Heon E, Liebmann JM, Yamamoto T, Craig JE, Rait J, Kawase K, Hoh ST, Buys YM, Dickinson J, Hockey RR, Williams-Lyn D, Trope G, Kitazawa Y, Ritch R, Mackey DA, Alward WL, Sheffield VC, Stone EM. Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum Mol Genet*. 8:899-905. 1999.
53. Fingert JH, Ying L, Swiderski RE, Nystuen AM, Arbour NC, Alward WL, Sheffield VC, Stone EM. Characterization and comparison of the human and mouse *GLC1A* glaucoma genes. *Genome Res*. 8:377-84. 1998.
54. Fisher SA, Abecasis GR, Yashar BM, Zarepari S, Swaroop A, Iyengar SK, Klein BE, Klein R, Lee KE, Majewski J, Schultz DW, Klein ML, Seddon JM, Santangelo SL, Weeks DE, Conley YP, Mah TS, Schmidt S, Haines JL, Pericak-Vance MA, Gorin MB, Schulz HL, Pardi F, Lewis CM, Weber BH. Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet*. 14:2257-2264. 2005.
55. Franco, Y O, Franco, L M. Biotransformação: importância e toxicidade. *Saúde em Revista*. 5(9): 69-76. 2003.
56. Francois J. Congenital glaucoma and its inheritance. *Ophthalmologica*. 181:61-73. 1980.

57. Gandolfi AJ, Sipes IG. Biotransformation of toxicants. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, (Klaassen CD), pp. 88 – 126. 4th edition. New York: McGraw-Hill, Inc. 1991.
58. Garber N. Health promotion and disease prevention in ophthalmology. *J Ophthalmic Nurs Technol.* 9:186–192. 1990.
59. Garte S, Gáspari L, Alexandre AK et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 10:1239-1248. 2001.
60. Gencik A. Epidemiology and genetics of primary congenital glaucoma in Slovakia. Description of a form of primary congenital glaucoma in gypsies with autosomal-recessive inheritance and complete penetrance. *Dev Ophthalmol.* 16:76-115. 1989.
61. Gaspar PA. Polimorfismos dos genes do citocromo P450, da glutationa S-transferase e do supressor de tumor TP53 em populações sul-americanas e em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica e câncer de pulmão. Tese (Doutorado Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002. 126 p.
62. Gibson G, Skett P. Introduction to drug metabolism. 2nd ed. New York: Blackie Academic and Professional Publishers. 1994.
63. Glick H, Brainsky A, McDonald RC, Javitt JC. The cost of glaucoma in the United States in 1988. *Chibret Int J Ophthalmol.* 10:6 –12. 1994.
64. Goldberg I, Graham SL, Healey PR. Glaucoma primário de ângulo aberto. *Med J Aust.* 177(10):535-536. 2002.
65. Gong G, Kosoko-Lasaki O, Haynatzki GR, Wilson MR. Genetic dissection of myocilin glaucoma. *Hum Mol Genet.* 13(1):91-102. 2004.

66. Gonzalez FJ, Nebert DW. Evolution of the P450 gene superfamily: animal-plant 'warfare', molecular drive and human genetic differences in drug oxidation. *Trends Genet.* 6: 182-186. 1990.
67. Gordon MO, Torri V, Miglior S, Beiser JA, Floriani I, Miller JP, Gao F, Adamsons I, Poli D, D'Agostino RB, Kass MA. A Validated Prediction Model for the Development of Primary Open Angle Glaucoma in Individuals with Ocular Hypertension. *Ophthalmology.* 114(1): 10–19. 2007.
68. Greenberb RS, Daniels SR, Flanders WD; Eley JW; Boring JR III. *Epidemiologia Clínica.* 3ª ed. São Paulo: Artmed. 2005.
69. Grupo de estudo colaborativo do glaucoma primário de pressão normal. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. *Am J Ophthalmol.* 126(4):487-497. 1998a.
70. Grupo de estudo colaborativo do glaucoma primário de pressão normal. The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 126(4):498-505. 1998b.
71. Grzybowski A. Present knowledge on the effects of smoking tobacco on the eye diseases. *Przegl Lek.* 65(10):724-7. 2008.
72. Guengerich FP, Shimada T. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutat Res.* 400:201-213. 1998.
73. Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV, Hancox LS, Taiber AJ, Hardisty LI, Hageman JL, Stockman HA, Borchardt JD, Gehrs KM, Smith RJ, Silvestri G, Russell SR, Klaver CC, Barbazetto I, Chang S, Yannuzzi LA, Barile GR, Merriam JC, Smith RT, Olsh AK, Bergeron J, Zernant J, Merriam JE, Gold B, Dean M, Allikmets R. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:7227-7232. 2005.

74. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Noureddine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance M. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science*. 308:419-421. 2005.
75. Hankinson O. The aryl hydrocarbon receptor complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 35:307-340. 1995.
76. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANESIII). *J Clin Endocrinol Metab*. 87:489-99. 2002.
77. Hollows FC, Graham PA. Intra-ocular pressure, glaucoma, and glaucoma suspects in a defined population. *Br J Ophthalmol*. 50:570-585. 1966.
78. Honma HN. Influência dos polimorfismos nos genes *CYP1A1*2A*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*B* na susceptibilidade ao câncer de pulmão. Tese (Mestrado em Clínica Médica) - Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. 120 p.
79. Hospital Oftalmológico da Barra. Disponível em: <http://www.homehoba.com.br/CADO/infopacientes.html#>. Acesso em: 06/07/11.
80. Hung RJ, Boffetta P, Brockmüller J, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper ML, Garte S, Haugen A, Hirvonen A, Anttila S, Kalina I, Le Marchand L, London SJ, Rannug A, Romkes M, Salagovic J, Schoket B, Gaspari L, Taioli E. *CYP1A1* and *GSTM1* genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis. *Carcinogenesis*. 24(5):875-82. 2003.
81. Inman DM, Sappington RM, Horner PJ, Calkins DJ. Quantitative correlation of optic nerve pathology with ocular pressure and corneal thickness in the DBA/2 mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 47:986-996. 2006.

82. Inoue H, Kiohara C, Marugame T, Shinomiya S, Tsuji E, Handa K, Hayabuchi H, Onuma K, Hamada H, Koga H, Kono S. Cigarette Smoking, *CYP1A1* MspI and genotypes, and colorectal adenomas. *Cancer Research*. 60: 3749-52. 2000.
83. Jaiswal AK, Nebert DW. Two RFLPs associated with the human P(1)450 gene linked to the MPI locus on chromosome 15 (HGM8D15S8). *Nucleic Acids Res*. 14:4376. 1986.
84. Johnson AT, Richards JE, Boehnke M, Stringham HM, Herman SB, Wong DJ, Lichter PR. Clinical phenotype of juvenile-onset primary open-angle glaucoma linked to chromosome 1q. *Ophthalmology* 103(5):808-14. 1996.
85. Jones TS, Yang W, Evans WE, Relling MV. Using HapMap Tools in Pharmacogenomic Discovery: The Thiopurine Methyltransferase polymorphism. *Clinical pharmacology & Therapeutics*. 81: 729-34. 2007.
86. Kampman E, Slattery M, Biggler L, Samowitz W, Caan B, Potter J. Meat Consumption, Genetic Susceptibility, and Colon Cancer Risk: A United States Multicenter Case-Control Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevent*. 8:15-24. 1999.
87. Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, Haines J, Abdrabou W, Pasquale LR. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with hypertension, alcohol intake, and cigarette smoking. *Arch Ophthalmol*. 129(6):773-80. 2011.
88. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, et al. Ocular Hypertension Treatment Study Group. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 120:701-13. 2002.
89. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shimoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the *cytochrome P4501A1* gene. *FEBS Letters*. 263:131-133. 1990.

90. Kee C, Ahn BH. *TIGR* gene in primary open-angle glaucoma and steroid-induced glaucoma. *Korean J. Ophthalmol.* 11, 75–78. 1997.
91. Khandekar RB, Jaffer MA, Al-Harthy H. Should the health information glaucoma be hospital based or community based? *Saudi Med J.* 29: 1156-8. 2008.
92. Klein BE, Klein R, Ritter LL. Relationship of drinking alcohol and smoking to prevalence of open-angle glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 100(11):1609–1613. 1993.
93. Klein BE, Klein R, Sponsel WE, Franke T, Cantor LB, Martone J, Menage MJ. Prevalence of glaucoma : the Beaver Dam eye study. *Ophthalmology.* 99:1499-1504. 1992.
94. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science.* 308:385-389. 2005.
95. Knepper, PA, Goossens W, Palmberg PF. Glycosaminoglycan stratification of the juxtacanalicular tissue in normal and primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 37(12):2414-2425. 1996.
96. Korolkovas A, Burckhalter JH. *Química farmacêutica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1988.
97. Kramer PL, Samples JR, Monemi S, Sykes R, Sarfarazi M, Wirtz MK. The role of the *WDR36* gene on chromosome 5q22.1 in a large family with primary open-angle glaucoma mapped to this region. *Arch Ophthalmol.* 124(9):1328-1331. 2006.
98. Kubota R, Kudoh J, Mashima Y, Asakawa S, Minoshima S, Hejmancik JF, Oguchi Y, Shimizu N. Genomic organization of the human myocilin gene (*MYOC*) responsible for primary open angle glaucoma (*GLCIA*). *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 242:396-400. 1998.

99. Kubota R, Noda S, Wang Y, Minoshima S, Asakawa S, Kudoh J, Mashima Y, Oguchi Y, Shimizu N. A novel myosin-like protein (myocilin) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor: molecular cloning, tissue expression, and chromosomal mapping. *Genomics*. 41:360-369. 1997.
100. Kumar A, Basavaraj MG, Gupta SK, Qamar I, Ali AM, Bajaj V, Ramesh TK, Prakash DR, Shetty JS, Dorairaj SK. Role of *CYP1B1*, *MYOC*, *OPTN* and *OPTC* genes in adult-onset primary open-angle glaucoma: predominance of *CYP1B1* mutations in Indian patients. *Molecular Vision*. 13:667-76. 2007.
101. Kymes SM, Kass MA, Anderson DR, Miller JP, Gordon MO, Ocular Hypertension Treatment Study Group (OHTS). Management of ocular hypertension: a cost-effectiveness approach from the Ocular Hypertension Treatment Study. *Am J Ophthalmol*. 141:997–1008. 2006.
102. Lang M, Pelkonen O. Chapter 3: metabolism of xenobiotics and chemical carcinogens. *IARC Sci Publ*. 148: 13-22. 1999.
103. Last JM. A dictionary of epidemiology. 4th ed. Oxford: Oxford University Press. 2001.
104. Le A, Mukesh BN, McCarty CA, Taylor HR. Risk Factors Associated with the Incidence of Open- Angle Glaucoma: The Visual Impairment Project. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 44: 3783-3789. 2003.
105. Lee PP, Levin LA, Walt JG, Chiang T, Katz LM, Dolgitsers M, Doyle JJ, Stern LS. Cost of patients with primary open-angle glaucoma: a retrospective study of commercial insurance claims data. *Ophthalmology*. 114(7):1241-1247. 2007.
106. Lehninger AL, Nelson DL; Cox, M.M. *Princípios de bioquímica*. 2^a ed. São Paulo: Savier. 1995.
107. Leske MC, Connell AMS, Wu S, Hyman LG, Schachat AP. Risk factors for open-angle glaucoma: The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 113: 918–924. 1995.

108. Leske MC, Connell AMS, Wu S, Nemesure B, Li X, Schachat A, Hennis A. Incidence of open-angle glaucoma: The Barbados Eye Studies. *Arch Ophthalmol.* 119: 89–95. 2001.
109. Leske MC, Wu SY, Nemesure B, Hennis A. Incident open-angle glaucoma and blood pressure. *Arch Ophthalmol.* 120(7):954-959. 2002.
110. Leske MC. The epidemiology of open-angle glaucoma: a review. *Am J Epidemiol.* 118(2):166-191. 1983.
111. Leske, MC, Connell AMS, Schachat AP, Hyman L. The Barbados eye study. *Arch.Ophthalmol.* 112:821-829. 1994.
112. Lewis DFV, Watson E, Lake BG. Evolution of the cytochrome P450 superfamily: sequence and alignments and pharmacogenetics. *Mut Res.* 410:245-270. 1998.
113. Li Y, Kang J, Horwitz MS. Interaction of an adenovirus E3 14.7-kilodalton protein with a novel tumor necrosis factor alpha-inducible cellular protein containing leucine zipper domains. *Mol Cell Biol.* 18(3):1601-1610. 1998.
114. Li Y, Millikan RC, Bell DA, Cui L, Tse CKJ, Newman B, Conway K. Cigarette smoking, cytochrome P4501A1 polymorphisms, and breast cancer among African-American and white women. *Breast Cancer Res.* 6:R460-R473. 2004.
115. Li Y, Millikan RC, Bell DA, Cui L, Tse CKJ, Newman B, Conway K. Polychlorinated biphenyls, *cytochrome P450 1A1 (CYP1A1)* polymorphisms, and breast cancer risk among African American women and white women in North Carolina: a population-based case-control study. *Breast Cancer Res.* 7:R12-R18. 2005.
116. Lichter PR. Genetic clues to glaucoma's secrets. The L Edward Jackson Memorial Lecture. Part 2. *Am J Ophthalmol.* 117:706-727. 1994
117. Lin HJ, Chen WC, Tsai FJ, Tsai SW. Distributions of p53 codon 72 polymorphism in primary open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 86(7): 767–770. 2002.

118. Liton PB, Challa P, Stinnett S, Luna C, Epstein DL, Gonzalez P. Cellular senescence in the glaucomatous outflow pathway. *Exp Gerontol.* 40:745–748. 2005.
119. Lois N, Abdelkader E, Reglitz K, Garden C, Ayres JG. Environmental tobacco smoke exposure and eye disease. *Br J Ophthalmol.* 92(10):1304-10. 2008.
120. Lutjen-Drecoll E, Rohen JW. Morphology of aqueous outflow pathways in normal and glaucomatous eyes. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T. *The Glaucomas.* 2nd ed, vol 1. Mosby, St. Louis, pp. 89 e 123.1996.
121. Lutjen-Drecoll E, Shimizu T, Rohrbach M, Rohen JW. Quantitative analysis of ‘plaque material’ in the inner- and outer wall of Schlemm’s canal in normal and glaucomatous eyes. *Exp Eye Res.* 42:443–455. 1986.
122. Lutjen-Drecoll E. Functional morphology of the trabecular meshwork in primate eyes. *Progr Ret Eye Res.* 18:91–119. 1998.
123. Mahdy MAMS. Gene therapy in glaucoma-part 2: Genetic etiology and gene mapping. *Oman J Ophthalmol.* 3(2): 51–59. 2010.
124. Mao M, Biery MC, Kobayashi SV, Ward T, Schimmack G, Burchard J, Schelter JM, Dai H, He YD, Linsley PS. T lymphocyte activation gene identification by coregulated expression on DNA microarrays. *Genomics.* 83:989-999. 2004.
125. Mansergh FC, Kenna PF, Ayuso C, Kiang AS, Humphries P, Farrar GJ. Novel mutations in the *TIGR* gene in early and late onset open angle glaucoma. *Hum. Mutat.* 11, 244–251. 1998.
126. Marchand LL, Siverman L, Pierce L, Seifried A, Lum A, Wilkens LR, Lau Ao. Associations of *CYP1A1*, *GSTM1*, and *CYP2E1* polymorphisms with lung cancer suggest Cell type specificities to tobacco carcinogens. *Cancer research.* 58:4858-63. 1998.

127. Mason RP, Kosoko O, Wilson MR, Martone JF, Cowan CL, Gear J, Ross-Degnan D. National survey of the prevalence and risk factors of glaucoma in St. Lucia, West Indies. *Ophthalmology*. 96:1363-1368. 1989.
128. Masters BS, Okita RT. The history, properties, and function of NADPH-cytochrome P-450 reductase. *Pharmacol Ther*. 9(2):227-44. 1980.
129. Matlashewski GJ, Tuck S, Pim D, Lamb P, et al. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. *Mol Cell Biol*. 7: 961-963. 1987.
130. Melki R, Colomb E, Lefort N, Brezin AP, Garchon H-J. *CYP1B1* mutations in French patients with early-onset primary open-angle glaucoma. *Med Genet*. 41:647-651. 2004.
131. Melki R, Colomb E, Lefort N, Brezin AP, Garchon HJ. *CYP1B1* mutations in French patients with early-onset primary open angle glaucoma. *J Med Genet*. 41:647-51. 2004.
132. Mello PAA, Mandia Júnior C. Segundo Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de ângulo Aberto. Ed. PlanMark. 2005.
133. Merck Canada. Disponível em: <http://www.merckfrosst.ca/mfcl/en/corporate/index.html>
Acesso em: 06/07/2011.
134. Meyer, U. Overview of enzymes of drug metabolism. *J. Pharmacokinet. Biopharm*. 24: 449-459. 1996.
135. Michels-Rautenstrauss KG, Mardin CY, Budde WM, Liehr T, Polansky J, Nguyen T, Timmerman V, Van Broeckhoven C, Naumann GO, Pfeiffer RA, Rautenstrauss BW. Juvenile open angle glaucoma: fine mapping of the *TIGR* gene to 1q24.3-q25.2 and mutation analysis. *Hum Genet*. 102:103-6. 1998.
136. Mitchell P, Smith W, Attebo K, Healey PR. Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 103(10):1661-1669. 1996.

137. Monemi S, Spaeth G, DaSilva A, Popinchalk S, Ilitchev E, Liebmann J, Ritch R, Heon E, Crick RP, Child A, Sarfarazi M. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Hum Mol Genet.* 14:725- 33. 2005.
138. Mota P, Moura DS, Vale AG, Coimbra H, Carvalho L, Regateiro F. Polimorfismos dos alelos m1 e m2 do gene CYP1A1: Susceptibilidade genética para o cancro do pulmão. *Ver Port Pneumol.* XVI (1):89-98. 2010.
139. Mustafa Ünal, Mehmet Güven, Kazım Devranoglu, Ahmet Özeydın, Bahadır Batar, Nevbahar Tamçelik, Ebru Eroglu Görgün, Didar Uçar, Ahmet Sarıcı. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *Br J Ophthalmol.* 91:527–530. 2007.
140. Nebert DW, Mckinnon RA, Puga A. Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol.* 15:273-80. 1996.
141. Nebert WN. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist? *Am J Hum Genet.* 60:265-271. 1997.
142. Nebert DW. Role of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mut Res* 247:267-281. 1991.
143. Nemesure B, Jiao X, He Q, Leske MC, Wu SY, Hennis A, Mendell N, Redman J, Garchon HJ, Agarwala R, Schäffer AA, Hejtmancik F, Barbados Family Study Group. A genome-wide scan for primary open-angle glaucoma (POAG): the Barbados Family Study of Open-Angle Glaucoma. *Hum Genet.* 112:600-609. 2003.
144. Nguyen TD, Chen P, Huang WD, Chen H, Johnson D, Polansky JR. Gene structure and properties of *TIGR*, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells. *J Biol Chem.* 273:6341-6350. 1998.
145. Nickells RW. Apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma: an update of the molecular pathways involved in cell death. *Surv Ophthalmol.* 1999, 43(1):1511-61. 1999.

146. Nora JJ, Fraser C. Farmacogenética. In: Nora JJ, Fraser C. Genética médica. 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 354-360. 1985.
147. Omura T. Forty years of cytochrome P450. Biochemical and Biophysical Research Communications. 266(3):690-698. 1999.
148. Parkinson A. Biotransformation of xenobiotics. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, (Klaassen CD), pp. 113-186. 9th ed. New York: McGraw_Hill, Inc. 2001.
149. Pekmezci M, Vo B, Lim AK, Hirabayashi DR, Tanaka GH, Weinreb RN, Lin SC. The characteristics of glaucoma in Japanese Americans. Arch Ophthalmol. 127:167-171. 2009.
150. Pena SDJ, Carvalho-Silva DR, Alves-Silva J, Prado VF. Retrato molecular do Brasil. Ciência Hoje. Vol. 27, nº 159. 2000.
151. Polansky JR. Current perspectives on the *TIGR/MYOC* gene (*Myocilin*) and glaucoma. Ophthalmol Clin North Am. 16:515-27. 2003.
152. Quigley HA, Broman AT. "The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020." Br J Ophthalmol. 90(3): 262-7. 2006.
153. Quigley HA, Enger C, Katz J, Sommer A, Scott R, Gilbert D. Risk factors for the development of glaucomatous visual field loss in ocular hypertension. Arch Ophthalmol. 112:644-649. 1994.
154. Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, Pease ME, Thibault DJ, Zack DJ. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 36:774-786. 1995.
155. Quigley HA, Vitale S. Models of open-angle glaucoma prevalence and incidence in the United States. Invest Ophthalmol Vis Sci. 38:83-91. 1997.

156. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol.* 80:389-393. 1996.
157. Rein DB, Zhang P, Wirth KE, Lee PP, Hoerger TJ, McCall N, Klein R, Tielsch JM, Vijan S, Saaddine J. The economic burden of major adult visual disorders in the United States. *Arch Ophthalmol.* 124:1754–1760. 2006.
158. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, Mariotti SP. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ.* 82(11):844-51. 2004.
159. Ressiniotis T, Griffiths PG, Keers SM, Chinnery PF, Birch M. A polymorphism at codon 31 of gene *p21* is not associated with primary open angle glaucoma in Caucasians. *BMC Ophthalmol.* 5: 5. 2005.
160. Rezaie T, Child A, Hitchings R, Brice G, Miller L, Coca-Prados M, Heon E, Krupin T, Ritch R, Kreutzer D, Crick RP, Sarfarazi M. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in *optineurin*. *Science.* 295:1077-1079. 2002.
161. Rezaie T, Waitzman DM, Seeman JL, Kaufman PL, Sarfarazi M. Molecular cloning and expression profiling of *optineurin* in the rhesus monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46(7):2404-2410. 2005.
162. Rocha DAM. Alterações de Enzimas de Biotransformação de Xenobióticos na Fase Inicial da Esquistossomose Mansônica Murina. Tese (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004. 133p.
163. Rossit A, Conforti-Froes NDT. Suscetibilidade genética, biometabolismo e câncer. *Rev Soc Bras Cancerol.* 3:26-30. 2000.
164. Rothman KJ. *Modern Epidemiology.* 1st ed. Boston: Little, Brown. 1986.
165. Rotimi CN, Chen G, Adeyemo AA, Jones LS, Agyenim-Boateng K, Eghan BA Jr, Zhou J, Doumatey A, Lashley K, Huang H, Fasanmade O, Akinsola FB, Ezepeue F, Amoah A,

- Akafo S, Chen Y, Oli J, Johnson T. Genomewide scan and fine mapping of quantitative trait loci for intraocular pressure on 5q and 14q in West Africans. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47:3262-3267. 2006.
166. Rozsa FW, Shimizu S, Lichter PR, Johnson AT, Othman MI, Scott K, Downs CA, Nguyen TD, Polansky J, Richards JE. *GLC1A* mutations point to regions of potential functional importance on the TIGR/MYOC protein. *Mol. Vis.* 4, 20. 1998.
167. Rudnicka AR, Mt-Isa S, Owen CG, Cook DG, Ashby D. Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: A Bayesian meta-analyziz. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47:4254-61. 2006.
168. Saccà SC, Pascotto A, Camicione P, Capris P, Izzotti A. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 123:1-7. 2005.
169. Sakata K. Prevalência e características clínicas do glaucoma em uma população da região sul do Brasil – Projeto Glaucoma. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 97 p.
170. Santos RB. Perfil genético de risco para doença de graves e para a oftalmopatia de graves em uma população brasileira. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009. 84 p.
171. Sarfarazi M, Akarsu NA, Hossain A, Turacli EM, Aktan GS, Barsoum-Homsy M, Chevrette L, Sayli SB. Assignment of a locus (*GLC3A*) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) to 2p21 and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics.* 30(2):171–177. 1995.
172. Sarfarazi M, Rezaie T. Optineurin in primary open angle glaucoma. *Ophthalmol Clin North Am.* 16(4):529-41. 2003.

173. Sathyamangalam RV, Paul PG, George R, Baskaran M, Hemamalini A, Madan RV, Augustian J, Prema R, Lingam V. Determinants of glaucoma awareness and knowledge in urban Chennai. *Indian J Ophthalmol.* 57(5): 355-360. 2009.
174. Saw S-M, Gazzard G, Friedman D, Foster PJ, Devereux JG, Wong ML, Seah S. Awareness of glaucoma and health beliefs of patients suffering primary acute angle closure. *Br J Ophthalmol.* 87:446-449. 2003.
175. Schwartz M, Yoles E. Neuroprotection: a new treatment modality for glaucoma? *Curr Opin Ophthalmol.* 11:107 -111. 2000.
176. Série Oftalmologia Brasileira. Glaucoma. Rio de Janeiro: Cultura Médica. p.5-582. 2009.
177. Shields MB, Ritch R, Krupin T. Classifications of the Glaucomas. In: *The Glaucomas.* Ritch R, Shields MB, Krupin T. St. Louis: Mosby. Vol.2. p. 717-725. 1996.
178. Shingleton BJ, Berson FG, Cantor L, Hodapp EA, Lee DA. Glaucoma. Basic and Clinical Science Course. Section 10. American Academy of Ophtalmology, USA. 1994.
179. Shiose Y, Kitazawa Y, Tsukahara S, Akamatsu T, Mizokami K, Futa R, Katsushima H, Kosaki H. Epidemiology of glaucoma in japan: a nationwide glaucoma survey. *Jpn. J. Ophthalmol.* 35(2):133-155. 1991. (Abstract).
180. Sigal IA, Flanagan JG, Ethier CR. Factors influencing optic nerve head biomechanics. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46(11):4189-4199. 2005.
181. Silva CTX. Análise do polimorfismo da glutationa s-transferase T1 E M1 em pacientes portadores de glaucoma primário de ângulo aberto. Dissertação em andamento de mestrado do programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Comunicação pessoal, 2011.
182. Silva LMS, VasconcelloS JPC, TemporinI ER, Costa VP, Kara-José N. Tratamento clínico do glaucoma em um hospital universitário: custo mensal e impacto na renda familiar. *Arq Bras Oftalmol.* 65:299-303. 2002.

183. Silva RE, Arruda JT, Rodrigues FW, Moura KKVO. Primary open angle glaucoma was not found to be associated with *p53* codon 72 polymorphism in a Brazilian cohort. *Genetics and Molecular Research*. 8(1): 268-272. 2009.
184. Simoni M, Bakker E, Eurlings MC, Matthijs G, Moro E, Müller CR, Vogt PH. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *International Journal of Andrology*. 22, 292-299. 1999.
185. Sivaraman L, Leathan MP, Yee J, Wilkens R, Lau AF., Marchand LL. *CYP1A1* genetic polymorphisms and in situ colorectal cancer. *Cancer Research*. 54:3692-3695. 1994.
186. Slattery ML, Samowitz W, Murtaugh M, Sweeney C, Levin TR, Neuhausen. *CYP1A1*, Cigarette smoking and colon rectal cancer. *American Journal of Epidemiology*. 160:842-52. 2004.
187. Sobti RC, Sharma S, Joshi A, Jindal SK, Janmeja A. *CYP1A1* and *CYP2D6* polymorphism and risk of lung câncer in a North Indian population. *Biomarkers*. 8:415-428. 2003.
188. Sommer A. Glaucoma risk factors observed in the Baltimore Eye Survey. *Curr Opin Ophthalmol*. 7:93-98. 1996.
189. Song N, Tan W, Xing D, Lin D. *CYP1A1* polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. *Carcinogenesis*. 22: 11-16. 2001.
190. Souza SR. Análise do polimorfismo MspI do gene *CYP1A1m1* (citocromo P450) e sua possível associação com a infertilidade em portadoras de endometriose. Dissertação em andamento de mestrado do programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Comunicação pessoal, 2011.

191. Sreeja L, Syamala V, Hariharan S, Madhavan J, Devan SC, Ankathil R. Possible risk modification by *CYP1A1*, *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms in lung cancer susceptibility in a South Indian population. *J Hum Genet.* 50:618-627. 2005.
192. Stambolian D, Ibay G, Reider L, Dana D, Moy C, Schlifka M, Holmes T, Ciner E, Bailey-Wilson JE. Genomewide linkage scan for myopia susceptibility loci among Ashkenazi Jewish families show evidence of linkage on chromosome 22q12. *Am J Hum Genet.* 75:448-459. 2004.
193. Stamper LR, Lieberman MF, Drake MV. *Diagnosis and therapy of the glaucomas.* 7th Mosby. 01-191. 1999.
194. Stegeman J J, Livingstone D R. Forms and functions of cytochrome P450. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C,* 121:1-3. 1998.
195. Stewart WC, Kolker AE, Sharp ED, Day DG, Holmes KT, Leech JN, Johnson M, Cantrell JB. Factors associated with long-term progression or stability in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 130,274-279. 2000.
196. Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M. Identification of three different truncating mutations in *cytochrome P4501B1 (CYP1B1)* as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the *GLC3A* locus on chromosome 2p21. *Hum Mol Genet.* 6:641-647. 1997.
197. Stone EM, Fingert JH, Alward WL, Nguyen TD, Polansky JR, Sunden SL, Nishimura D, Clark AF, Nystuen A, Nichols BE, Mackey DA, Ritch R, Kalenak JW, Craven ER, Sheffield VC. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science.* 275:668-670. 1997.
198. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature.* 393: 229-234. 1998.

199. Susanna Júnior R. Glaucoma – Conselho Brasileiro de Oftalmologia. Ed. Cultura Médica. 01-29. 1999.
200. Suzuki Y, Shirato S, Taniguchi F, Ohara K, Nishimaki K, Ohta S. Mutations in the *TIGR* gene in familial primary open-angle glaucoma in Japan. *Am. J. Hum. Genet.* 61, 1202–1204. 1997.
201. Surgeon General. The health consequences of smoking: a report of the Surgeon General. Atlanta (GA): US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. 2004.
202. Tektas OY, Lutjen-Drecoll E. Structural changes of the trabecular meshwork in different kinds of glaucoma. *Exp Eye Res.* 88(4):769-75. 2009.
203. Thylefors B, Négrel A-D. The global impact of glaucoma. *Bull World Health Organ.* 72(3):323-6. 1994.
204. Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC. Family history and risk of primary open angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol.* 112(1):69-73. 1994.
205. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA.* 266:369-74. 1991.
206. Tuck MW, Crick RP. The age distribution of primary open angle glaucoma. *Ophthalmic Epidemiol.* 5:173-183. 1998.
207. Vermeulen NPE. Role of metabolism in chemical toxicity. In: Ioannides C. *Cytochrome P450: Metabolic and Toxicological Aspects*. 1st ed. New York: CRC Press, Boca Raton. pp. 136-151. 1996.

208. Vijaya L, George R, Baskaran M, Arvind H, Raju P, Ramesh S Ve, Phil M, Kumaramanickavel G, McCarty C. Prevalence of Primary Open-angle Glaucoma in an Urban South Indian Population and Comparison with a Rural Population. The Chennai Glaucoma Study. *Ophthalmology*. 115:648–54. 2008.
209. Vincent AL, Billingsley G, Buys Y, Levin AV, Priston M, Trope G, Williams- Lyn D, Heon E. Digenic inheritance of early-onset glaucoma: *CYP11B1*, a potential modifier gene. *Am J Hum Genet*. 70:448–60. 2002.
210. Wang N, Chintala SK, Fini ME, Schuman JS. Activation of a tissue-specific stress response in the aqueous outflow pathway of the eye defines the glaucoma disease phenotype. *Nature Medicine*. 7:304 – 309. 2001.
211. Wang DY, Fan BJ, Chua JK, Tam PO, Leung CK, Lam DS, Pang CP. A genome-wide scan maps a novel juvenile-onset primary open-angle glaucoma locus to 15q. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 47:5315-21. 2006.
212. Weetman AP. Autoimmune thyroid disease: propagation and progression. *Eur J Endocrinol*. 148:1-9. 2003.
213. Wei Q, Gu J, Cheng L, Bondy ML, Jiang H, Hong WK, Spitz MR. Benzo[*a*]pyrene diol epoxide-induced chromosomal aberrations and risk of lung cancer. *Cancer Res*. 56:3975-3979. 1996.
214. Weih LM, Mukesh N, McCarty CA, Taylor HR. Prevalence and predictors of open-angle glaucoma: results from the Visual Impairment Project. *Ophthalmology*. 108:1966–1972. 2001.
215. Wiggs JL, Allingham RR, Hossain A, Kern J, Auguste J, DelBono EA, Broome B, Graham FL, Hauser M, Pericak-Vance M, Haines JL. Genome-wide scan for adult onset primary open angle glaucoma. *Hum Mol Genet*. 9:1109-1117. 2000.

216. Wiggs JL, Allingham RR, Vollrath D, Jones KH, De La Paz M, Kern J, Patterson K, Babb VL, Del Bono EA, Broomer BW, Pericak-Vance MA, Haines JL. Prevalence of mutations in TIGR/myocilin in patients with adult and juvenile primary open-angle glaucoma. *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1549–1552. 1998.
217. Wiggs JL, Damji KF, Haines JL, Pericak-Vance MA, Allingham RR. The distinction between juvenile and adult-onset primary open-angle glaucoma. *Am J Hum Genet.* 58(1):243-4. 1996.
218. Wiggs JL, Del Bono EA, Schuman JS, Hutchinson BT, Walton DS. Clinical features of five pedigrees genetically linked to the juvenile glaucoma locus on chromosome 1q21-q31. *Ophthalmology.* 102(12):1782-9. 1995.
219. Wiggs JL. Genetic Etiologies of Glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 125(1):30-37. 2007.
220. Willard H. Genética e câncer. In: Nussbaum RL, McInnes RR, Huntington FN. *Genética médica* Thompson & Thompson. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. p. 274- 293.
221. Wolfs RCW, Klaver CCW, Ramrattan RS, van Duijn CM, Hofman A, de Jong PTVM. Genetic Risk of Primary Open-angle Glaucoma. *Opht. Mol. Genet.* 116: 1640-1645. 1998.
222. Woodroffe A, Krafchak CM, Fuse N, Lichter PR, Moroi SE, Schertzer R, Downs CA, Duren WL, Boehnke M, Richards JE. Ordered subset analysis supports a glaucoma locus at GLC1I on chromosome 15 in families with earlier adult age at diagnosis. *Exp. Eye Res.* 82:1068-1074. 2006.
223. Worley A, Grimmer-Somers K. Risk factors for glaucoma: what do they really mean? *Aust J Prim Health.* 17(3):233-9. 2011.
224. WuDunn D. Genetic basis of glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 13:55-60. 2002.
225. Yan X, Tezel G, Wax MB, Edward DP. Matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor alpha in glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol.* 118:666-673. 2000.

226. Yuan L, Neufeld AH. Tumor necrosis factor-alpha: a potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head. *Glia*. 32:42-50. 2000.
227. Zhang X, Kahende J, Fan AZ, Barker L, Thompson TJ, Mokdad AH, Li Y, Saaddine JB. Smoking and Visual Impairment Among Older Adults With Age-Related Eye Diseases. 8(4):A84. 2011.

ANEXOS

Anexo I:

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIMENTO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, de uma pesquisa científica. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Goiás pelos telefones 3946-1071.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto: POLIMORFISMO DO GENE p53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM CENTRO DE REFERENCIA EM OFTALMOLOGIA NA CIDADE DE GOIÂNIA

Coordenador Responsável: Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura

Telefone para contato: 3946-1385 e 3946-1443

Eu abaixo qualificado, após ter sido esclarecido verbalmente e depois de ler o resumo do projeto realizado pelo Núcleo de Pesquisa Replicon da Universidade Católica de Goiás. DECLARO assumir, por espontânea vontade, livre de qualquer coação, a responsabilidade pela participação voluntária e gratuita, no grupo de pacientes integrantes da pesquisa. Para esta pesquisa serão coletados 10mL de sangue periférico, que será armazenado e utilizado em trabalhos posteriores mantendo o objetivo de complementar o diagnóstico. O risco envolvido na coleta é o mesmo para realizar um hemograma, e caso apresente algum problema será imediatamente atendido pelos profissionais habilitados na clínica em questão. Os pacientes que não apresentam glaucoma irão colaborar para comparar seus resultados aos de pacientes com glaucoma. Este projeto tem como objetivo realizar um diagnóstico mais simples e rápido para pacientes e familiares com suspeita de glaucoma, o que beneficiará os familiares dos envolvidos.

DECLARO que compreendi que a obtenção das amostras acontecerá sob minha total ciência, e sob os procedimentos adequados pela equipe responsável pela pesquisa, sem qualquer prejuízo a minha pessoa e que será mantido o total sigilo dos resultados, que serão entregues

apenas a mim ou responsável. Outrossim, tenho pleno conhecimento de que o material será utilizado apenas e tão somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, ressaltando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa.

- Nome do pesquisador:

- Assinatura do paciente:

- Data: ____/____/____

Anexo II:

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG nº _____, CPF nº _____, nº de prontuário _____, abaixo assinado, concordo em participar no projeto: POLIMORFISMO DO GENE p53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM CENTRO DE REFERENCIA EM OFTALMOLOGIA NA CIDADE DE GOIÂNIA, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa, os procedimentos envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência e/ou tratamento.

Local e data: _____

Pesquisador: _____

Nome do sujeito ou responsável: _____

Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Anexo III:

**POLIMORFISMO DO GENE p53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM
CENTRO DE REFERENCIA EM OFTALMOLOGIA NA CIDADE DE GOIÂNIA
FICHA TÉCNICA**

Nome: _____ Ficha Nº _____

Acuidade visual sem correção: _____

Acuidade visual com correção: _____

Quanto tempo comprovadamente tem glaucoma: _____

Medicação atual: _____

Colírio: _____

Cirurgia de glaucoma: _____

Refração: OD _____

OE _____

Tonometria: OD _____

OE _____

Biomicroscopia: OD _____

OE _____

Fundoscopia: OD _____

OE _____

Exames complementares: _____

Observações: _____

Médico responsável: _____

Data ___/___/____.

Anexo IV:

POLIMORFISMO DO GENE p53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM CENTRO DE REFERENCIA EM OFTALMOLOGIA NA CIDADE DE GOIÂNIA

QUESTIONÁRIO

Nome: _____ Idade: _____

Ficha de inscrição (PCO): _____ Sexo: () masculino () feminino

Raça: () Branca () Negra () Parda Outras: _____

Escolaridade: () sem escolaridade () 1º grau () 2º grau () 3º grau () Outros

Você tem alguma dessas doenças: Pressão Alta () Diabetes () Enxaqueca () Má circulação ou varizes () Pressão Baixa () Problemas no coração () Qual:

Outras doenças: _____

Você tem alguém cego na família por glaucoma? () sim () não () não sei

Se a resposta for sim, qual é o grau de parentesco: _____

Você fuma? Sim () Não () As vezes ()

Se a resposta for sim ou às vezes, quantos cigarros/dia você fuma?

Há quanto tempo você fuma? _____

Você ingere bebida alcoólica? Sim () Não () As vezes ()

Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana?

Você ingere carne? Sim () Não () As vezes ()

Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana?

Você pratica algum esporte ou atividade física? Sim () Não () As vezes ()

Se a resposta for sim ou às vezes, quantos dias da semana e qual é atividade?

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do responsável: _____

Anexo V:

Andamento do projeto - CAAE - 0076.0.168.000-07

Título do Projeto de Pesquisa

POLIMORFISMO DO GENE P53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM CENTRO DE REFERENCIA EM OFTLMOLOGIA NA CIDADE DE GOIANIA

Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	18/10/2007 14:25:34	13/12/2007 13:46:08		

Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	08/10/2007 11:37:41	Folha de Rosto	FR160294	Pesquisador
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	18/10/2007 14:25:35	Folha de Rosto	0076.0.168.000-07	CEP
3 - Protocolo Aprovado no CEP	13/12/2007 13:46:08	Folha de Rosto	717	CEP

Anexo VI:

Aceite do resumo no World Ophthalmology Congress (WOC 2012 - Abu Dhabi)

Abstract Title: ASSOCIATION OF CYP1A1M1 POLIMORPHISM WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Abstract Number: 1952.00

Submitted as: Poster

Theme: Immunology, Molecular Biology and Microbiology

Result: Accepted as poster presentation

Anexo VII:

2º lugar no VI Workshop de Genética



**VI Workshop
de Genética**



PUC GOIÁS

ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE *CYP1A1M1* AO GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO
NATHALIE BORGES COSTA, CONSTANZA THAISE XAVIER SILVA, ARIANE BOCALETTO FRARE, KLEBER SANTIAGO FREITAS E SILVA, RODRIGO EGÍDIO DA SILVA, KÁTIA KARINA VEROLLI DE OLIVEIRA MOURA **este resumo foi classificado em 2º lugar no**

VI WORKSHOP DE GENÉTICA DA PUC-GO, nos dias 03-05/11/11.

Katia Karina Verolli Moura

Profª Dra Katia Karina Verolli O Moura
Coordenadora MGene

Flávia Melo Rodrigues

Profª Dra Flávia Melo Rodrigues
Vice-Coordenadora MGene

ORGANIZAÇÃO
MGene

Anexo VIII:

Aceite de Trabalho Científico – Congresso Oftalmologia USP 2011

De: Secretaria USP [secretariausp@jdeeventos.com.br]

Enviado: quarta-feira, 16 de novembro de 2011 12:57

Para: KATIA KARINA VEROLLI DE O MOURA

Assunto: RES: trabalho inscrito

Prezada Dra Katia, boa tarde.

Gostaríamos de comunicar que os trabalhos científicos intitulados de **“POLIMORFISMO DO GENE GSTM1 EM PORTADORES DE GLAUCOMA PRIMÁRIO DO ÂNGULO ABERTO”** e **“ANÁLISE DO POLIOMORFISMO CYP1A1M1 EM PACIENTES COM GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO”** foram aprovados e selecionados pela comissão julgadora para exposição no Congresso de Oftalmologia USP 2011.