



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**  
**MESTRADO EM GENÉTICA**



**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DA GLUTATIONA S-  
TRANSFERASE M1 E T1 EM PACIENTES PORTADORES  
DE GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO**

**CONSTANZA THAISE XAVIER SILVA**

**Goiânia – GO**  
**2012**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
MESTRADO EM GENÉTICA



**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DA GLUTATIONA S-  
TRANSFERASE M1 E T1 EM PACIENTES PORTADORES  
DE GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO**

**CONSTANZA THAISE XAVIER SILVA**

Dissertação de mestrado apresentado ao  
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*  
em Genética - MGENE da Pontifícia  
Universidade Católica de Goiás, para  
obtenção do título de Mestre em Genética.

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Karina Verolli de O. Moura**  
**CO-ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. MSc. Ariane Bocaletto Frare**

Goiânia – GO  
2012

Silva, Constanza Thaise Xavier.

S586a Análise do polimorfismo da Glutathione S-Transferase M1 e T1 em pacientes portadores de glaucoma primário de ângulo aberto [manuscrito] / Constanza Thaise Xavier Silva. – 2012. 77 f.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Genética, 2012.

“Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura”.

1. Glaucoma. 2. Polimorfismo (Genética). I. Título.

CDU: 617.7-007.681(043.2)

## *Dedico este trabalho...*

*Ao meu senhor Deus por sua preciosa e doce presença em minha vida. Aos meus queridos pais, pelo amor incondicional, incentivo e por terem me ensinado a persistir e não desistir diante das dificuldades. Ao meu esposo Lucas pelo seu amor e carinho. A minha filha Maria Eduarda pela a alegria trazida. Aos meus irmãos pela amizade, apoio e confiança. Amo muito todos vocês!!!*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu senhor *DEUS*, agradeço por minha vida, e por, mas esta etapa vencida.

Aos meus pais *José Eustáquio da Silva* e *Maria Abadia Xavier Silva*, por me tornarem uma pessoa de caráter e principalmente, por me ensinar que a humildade e o conhecimento são as únicas heranças que levamos conosco. Á meu *PAI* por ser simplesmente o melhor pai do mundo. À minha *MÃE*, por todas as manhãs que me acordou para ir à aula, pelo exemplo de pessoa, esposa, amiga e mãe. Amo vocês para todo o sempre.

Ao meu esposo *Lucas Sebastião de Souza e Silva*, por estar sempre do meu lado, pela paciência, compreensão, dedicação, carinho, amizade, cumplicidade e obrigada por me conceder à melhor coisa desse mundo nossa filha *Maria Eduarda Xavier Silva*.

Á minha querida e amada filha *Maria Eduarda Xavier Silva*, mamãe te ama muito.

Á minha orientadora *Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura* pela confiança, orientação, paciência, apoio e principalmente por me ensinar a ser mais independente e criativa. Agradeço imensamente o aprendizado e a oportunidade.

Aos alunos de iniciação científica da *Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Karina* meu muito obrigado pelo companheirismo, pela amizade e pelos bons momentos de descontração.

Ao *Dr<sup>o</sup>. Rodrigo Egídio da Silva* pelo fornecimento das amostras.

Aos pacientes e ao grupo controle pela participação na pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Aos amigos do Núcleo de Pesquisas Replicon, pelo companheirismo e pela contribuição direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Á minha família pela compreensão, orações, amor e carinho. Amo cada um e sou muito grata a Deus por terem todos vocês em minha vida.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

*Muito Obrigada!*

**SUMÁRIO**

	Página
LISTA DE FIGURAS -----	vi
LISTA DE TABELAS -----	viii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS -----	x
LISTA DE ANEXOS -----	xiii
RESUMO -----	xiv
ABSTRACT -----	xv
1. INTRODUÇÃO -----	16
1.1 Glaucoma -----	16
1.2 Glaucoma Primário de Ângulo Aberto -----	19
1.3 Genes candidatos para o Glaucoma Primário de Ângulo Aberto -----	22
1.4 Xenobióticos e sua metabolização no organismo humano -----	26
1.5 Família das Glutathione S-Transferases -----	28
1.5.1 Genes GSTM1 -----	31
1.5.2 Genes GSTT1 -----	33
2. JUSTIFICATIVA -----	36
3. OBJETIVOS -----	37
3.1 Objetivo Geral -----	37
3.2 Objetivos Específicos -----	37
4. MATERIAL E MÉTODOS -----	38
4.1 Casuística -----	38
4.2 Análises moleculares -----	38
4.3 Análise estatística -----	41
5. RESULTADOS -----	42
6. DISCUSSÃO -----	52
7. CONCLUSÃO -----	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	60
9. ANEXOS -----	74

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 1: Nervo óptico sem sinais de escavação (Fonte: Spaeth, 2006).	18
Figura 2: Nervo óptico danificado pela pressão intra-ocular alta (Fonte: Spaeth, 2006).	18
Figura 3: Canal de drenagem do humor aquoso (Fonte: <a href="http://www.iobh.com.br/.phpnti=61">http://www.iobh.com.br/.phpnti=61</a> ).	20
Figura 4: Interação entre as enzimas metabolizadoras de fase I e II e o modo como elas contribuem para a toxicidade e mutação (Rossit et al., 1999).	27
Figura 5: Localização Genômica do gene <i>GSTM1</i> (Fonte: <a href="http://www.omim.org/entry/138350">http://www.omim.org/entry/138350</a> ).	31
Figura 6: O gene <i>GSTM1</i> é composto por oito exons, que variam em tamanho de 36-112 pb, enquanto que os íntrons variam de 87-2641 pb. Está inserido em uma região com grande homologia ladeado por duas regiões quase idênticas de 4,2 kb. A parte inferior da figura exemplifica o alelo nulo originado por recombinação homóloga dos 4,2- kb em 5' e 3' (Fonte: Roodi et al., 2004).	32
Figura 7: Localização Genômica do gene <i>GSTT1</i> (Fonte: <a href="http://www.omim.org/entry/600436">http://www.omim.org/entry/600436</a> ).	33
Figura 8: Desenho esquemático mostrando as posições dos genes da classe Teta de <i>GST</i> , no cromossomo 22, e a representação do alelo selvagem e mutante do gene <i>GSTT1</i> . (Fonte: da Silva-Júnior, 2008).	34
Figura 9: Gel de Agarose a 2% indicando o resultado da genotipagem do gene <i>GSTM1</i> (480pb).	42
Figura 10: Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do gene <i>GSTT1</i> (215pb).	43

Figura 11: Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do gene *ZFX/ZFY* (495pb). 43



**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela I: Genes e locos associados ao glaucoma.	23
Tabela II: Seqüência dos primers e tamanho esperado dos fragmentos.	40
Tabela III: Protocolo da PCR para amplificação do polimorfismo da <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> .	40
Tabela IV: Protocolo da PCR para amplificação do gene <i>ZFX/Y</i> .	40
Tabela V: Protocolo de termociclagem para amplificação dos primers <i>GSTTI</i> e <i>GSTMI</i> .	41
Tabela VI: Protocolo de termociclagem para amplificação do <i>primer ZFX/ZFY</i> .	41
Tabela VII: Comparação entre as médias de idade entre o grupo glaucoma e o grupo controle.	42
Tabela VIII: Frequência dos polimorfismos <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> entre os grupos glaucoma e o grupo controle.	44
Tabela IX: Distribuição dos polimorfismos <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> entre os grupos glaucoma e o controle.	45
Tabela X: Comparação da variável gênero com o polimorfismo dos genes <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> no grupo glaucoma e no grupo controle.	46
Tabela XI: Comparação da variável etnia com o polimorfismo dos genes <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> entre o grupo glaucoma e o grupo controle.	47
Tabela XII: Comparação da variável hábito de fumar com os polimorfismos dos genes <i>GSTMI</i> e <i>GSTTI</i> entre o grupo glaucoma e o grupo controle.	49

Tabela XIII: Comparação da variável hábito de consumir bebida alcoólica com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* entre o grupo glaucoma e o grupo controle. 50

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

### ABREVIACÕES

<i>APOE</i>	Apolipoproteína E
<i>CONEP</i>	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
<i>CYP1B1</i>	Citocromo 1B1
<i>DNA</i>	Ácido desoxirribonucléico
<i>dNTP</i>	Deoxinucleotídeo trifosfato
<i>DP</i>	Desvio Padrão
<i>EDTA</i>	Ácido etileno diamino tetra acético
<i>GL</i>	Grau de liberdade
<i>GPAA</i>	Glaucoma Primário de Ângulo Aberto
<i>GPAF</i>	Glaucoma Primário de Ângulo Fechado
<i>GST</i>	Glutathione S-transferase
<i>GSTM1</i>	Glutathione S-transferase M1
<i>GSTT1</i>	Glutathione S-transferase T1
<i>H<sub>2</sub>O</i>	Água
<i>HAP</i>	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
<i>HUGO</i>	Do inglês <i>Human Genoma Database</i>
<i>JOAG</i>	Do inglês <i>Juvenil Open-Angle Glaucoma</i>
<i>kb</i>	Kilobases (1kb = 1000 pb)
<i>Mb</i>	Megabases (1Mb = 1000 kb)
<i>MgCl<sub>2</sub></i>	Cloreto de magnésio
<i>mL</i>	Mililitro
<i>mM</i>	Milimolar

<i>MYOC</i>	Gene Miocilina
<i>n</i>	Número
<i>ng/μL</i>	Nanogramas por microlitro
<i>OMS</i>	Organização Mundial de Saúde
<i>OPTN</i>	Gene Optineurina
<i>P</i>	Valor probabilístico de significância
<i>pb</i>	Pares de Base
<i>PCR</i>	Reação em Cadeia da Polimerase
<i>PIO</i>	Pressão intra-ocular
<i>pMol</i>	Picomol
<i>RGC</i>	Células Ganglionares da Retina
<i>ROS</i>	Espécies Reativas de Oxigênio
<i>Taq</i>	Enzima <i>Thermus aquaticus</i> polimerase
<i>TBE</i>	Tris/Borato/EDTA
<i>TIGR</i>	Do inglês <i>Trabecular Meshwork-Inducible Glucocorticoid Response</i>
<i>Tris</i>	Tris-hidroxi-metil-aminocetano
<i>U/μL</i>	Unidade por microlitro
<i>UV</i>	Ultravioleta
<i>V/cm</i>	Volts por centímetro
<i>WDR36</i>	Do inglês <i>W Repeat-Containing Protein 36</i>
<i>ZFX/Y</i>	Do inglês <i>Zinc Finger, X e Y</i>

**SÍMBOLOS**

%	Porcentagem
=	Igual
$\infty$	Infinito
<	Menor
>	maior
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\mu\text{g/mL}$	Microgramas por mililitro
$\chi^2$	Teste do <i>Qui</i> quadrado

**LISTA DE ANEXOS**

	Página
Anexo I: Questionário	73
Anexos II: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Consentimento da Participação da Pessoa como Sujeito	74
Anexo III: Número do CONEP/SINEP – Aprovação do Comitê de Ética	77

## RESUMO

O Glaucoma designa um grupo de doenças oculares que evoluem progressivamente sendo caracterizadas por danos típicos no nervo óptico com conseqüentes alterações de visão. O tipo mais frequente é o glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) que corresponde aproximadamente 60% dos casos. O epitélio ocular expressa genes que codificam as enzimas Glutathione S-Transferase (GST). A GST está presente em várias estruturas oculares, incluindo humor aquoso, corpo ciliar e cristalino. Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil genotípico dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes portadores de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto e grupo controle na cidade de Goiânia. Foram analisadas amostras de sangue periférico de 100 amostras de pacientes comprovadamente diagnosticados como portadores de glaucoma e 53 amostras de pacientes com exame dentro dos padrões considerados normais, representando o grupo controle. O polimorfismo foi avaliado por PCR e analisados em gel de agarose a 2% e corado com brometo de etídeo. As frequências dos polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foram comparadas com o teste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ) e a taxa de risco foi avaliada pelo teste de *Odds Ratio* com intervalo de confiança de 95% ( $\alpha = 0,05$ ). No grupo caso observou-se que o genótipo *GSTM1* presente foi de 40% ( $n=40$ ) e nos controles foi de 71,6% ( $n=38$ ). O genótipo nulo foi 60% ( $n=60$ ) e 28,3% ( $n=15$ ), respectivamente. O genótipo *GSTT1* presente no grupo caso foi de 52% ( $n=52$ ) e no grupo controle foi de 66% ( $n=35$ ); já o genótipo nulo foi de 48% ( $n=48$ ) no grupo caso e 34% ( $n=18$ ) no grupo controle. O genótipo *GSTM1* nulo no grupo caso foi mais frequente do que no grupo controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0004$ ). O mesmo não foi encontrado com o genótipo *GSTT1* ( $p=0,13$ ). Foi verificado também a associação dos genótipos *GSTM1* nulo/*GSTT1* presente ao risco de glaucoma para 3,1 vezes mais a chance de ocorrência da doença, sugerindo que indivíduos que apresentam os genótipos *GSTM1* nulo/*GSTT1* presente pode ser considerado como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do GPAA. Já para os genótipos *GSTM1/GSTT1* nulos foi verificado o risco de 6,7 vezes mais a chance de ocorrência da doença ( $p=0,0004$ ; OR: 6,7; IC 95%: 2,7 – 20,3), sugerindo que indivíduos que apresentam os genótipos *GSTM1/GSTT1* nulos pode ser considerado como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do GPAA.

Palavras chaves: Glaucoma, glutathione S-transferase, *GSTM1* e *GSTT1*.

**ABSTRACT**

*Glaucoma refers to a group of eye diseases that gradually evolve being characterized by typical damage to the optic nerve with consequent changes in vision. The most common type is the primary open angle glaucoma (POAG) corresponding to approximately 60% of cases. The ocular epithelia expressed genes encoding the enzymes Glutathione S-Transferase (GST). The GST is present in various ocular structures, including aqueous humor, ciliary body, and lens. This study aimed to evaluate the genotypic profile of the gene GSTT1 and GSTM1 polymorphisms in patients with Primary Open Angle Glaucoma and control group in the city of Goiânia. Peripheral blood samples were analyzed by up to 100 samples of patients diagnosed as carriers of glaucoma, proven and 53 specimens from patients with examination within the customary standards, representing the control group. The polymorphism was assessed by PCR and analyzed in 2% agarose gel, stained with ethidium bromide. The frequencies of polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 genes were compared with the  $\chi^2$  test ( $p < 0.05\%$ ) and rate risk was assessed by the test of Odds Ratio with 95% confidence interval ( $\alpha = 0.05$ ). In case it was noted that this was of genotype GSTM1 40% ( $n = 40$ ) and in controls was 71.6% ( $n = 38$ ). The null genotype was 60% ( $n = 60$ ) and 28.3% ( $n = 15$ ), respectively. The GSTT1 genotype present in case group was 52% ( $n = 52$ ) and in the control group was 66% ( $n = 35$ ); already the null genotype was 48% ( $n = 48$ ) in case group and 34% ( $n = 18$ ) in the control group. GSTM1 null genotype in the case group was more frequent than in the control group, and this difference statistically significant ( $p = 0.0004$ ). The same was not found with the GSTT1 genotype ( $p = 0.13$ ). Checked also the Association of genotypes GSTM1 null/GSTT1 this the risk of glaucoma to 3.1 times more the chance of disease occurrence, suggesting that individuals who have the GSTM1 null genotype/GSTT1 this can be regarded as one of the risk factors for the development of the POAG. Already for the genotypes GSTM1 null was verified the GSTT1/risk of 6.7 times more chance of occurrence of disease ( $p = 0.0004$ ; OR: 6.7; 95% CI:-2.7 20.3), suggesting that individuals who have the GSTM1 null genotype/GSTT1 can be regarded as one of the risk factors for the development of the POAG.*

**Keywords:** *Glaucoma, Glutathione S-Transferase, GSTM1 and GSTT1.*



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Glaucoma

A definição de glaucoma mudou muito desde o seu surgimento em torno da época de Hipócrates (cerca de 400 a.C). A palavra veio do grego antigo, *glaucosis*, significando nublado ou tonalidade azul-esverdeada, provavelmente descrevendo um paciente com edema de córnea ou evolução rápida de um precipitado de catarata por elevação da pressão intra-ocular (PIO). Ao longo dos anos, o conceito de glaucoma tem sofrido extensa mudança, especialmente nos últimos 100 anos, até a presente data (Bathija et al., 1998).

O glaucoma é atualmente definido como uma perturbação da integridade estrutural ou funcional do nervo óptico caracterizada por uma degeneração progressiva das células ganglionares da retina e de seus axônios em regiões específicas da retina, que pode também conduzir defeitos específicos do campo visual ao longo do tempo (Bathija et al., 1998).

O glaucoma pode ou não estar associado à pressão intra-ocular acima dos níveis considerados normais. É uma das três principais causas de cegueira no mundo, sendo considerada como a segunda causa de cegueira irreversível nos caucasianos e a primeira nos indivíduos negros (Mello e Junior, 2005). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que existem cerca de 105 milhões de pessoas no mundo com suspeita de glaucoma (Thylefors e Negrel, 1994; Quigley, 1996).

O glaucoma pode ser classificado de acordo com sua etiologia, com o aspecto anatômico do seio camerular e a idade de aparecimento. Entre os grupos de glaucoma há aqueles classificados em: primário, secundário e congênito. O glaucoma primário é classificado quando os mecanismos de elevação da PIO não são bem conhecidos

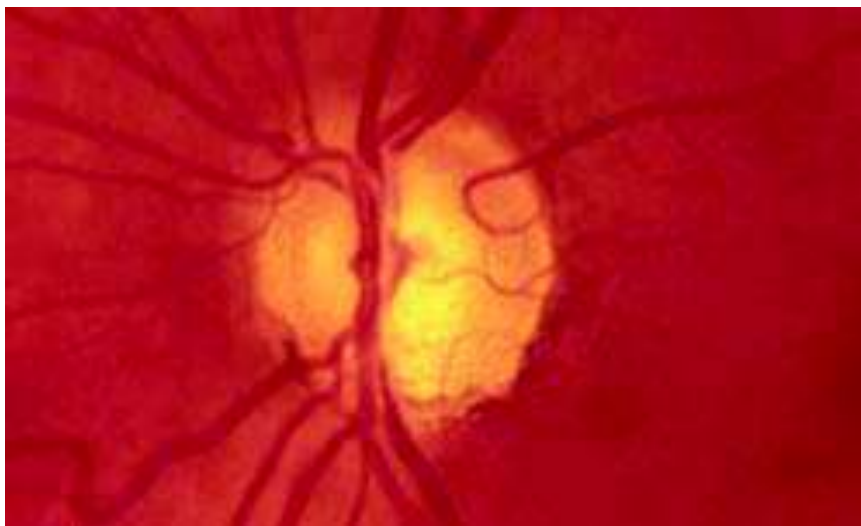
(Vasconcellos, 2001). Esses grupos são: glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA), com maior incidência em torno de 60% dos casos; glaucoma primário de ângulo fechado (GPAF), com 26,6% de incidência (Thylefors e Negrel, 1994; Stamper, 1999). Já o glaucoma secundário é classificado quando os mecanismos de aumento da PIO são conhecidos (Leske et al., 1981; Sakata, 2006). São eles: tumores, catarata avançada, uveítes, diabetes e o uso de corticóides. E o glaucoma congênito ou juvenil, ocorre uma anormalidade do segmento anterior dos olhos que se inicia no nascimento, com incidência de aproximadamente 1,3% (Thylefors e Negrel, 1994; Stamper, 1999).

O diagnóstico do glaucoma é feito após uma consulta oftalmológica apurada que afere a pressão intra-ocular e exames que analisam o fundo do olho como por exemplo: a tonometria que mede a pressão intra-ocular; a oftalmoscopia que permite a visualização das estruturas dentro do olho, principalmente o nervo óptico; a gonioscopia que avalia se o ângulo onde a íris e a córnea se encontram no interior do olho e se está amplo ou estreito, mostrando se o glaucoma é de ângulo aberto ou fechado; a retinografia simples que avalia as estruturas da retina; a campimetria de frequência duplicada que permite que seja feito um mapa da visão e a topografia de disco óptico que avalia alterações do disco óptico (Lauretti e Filho, 1997; Netland, 2007).

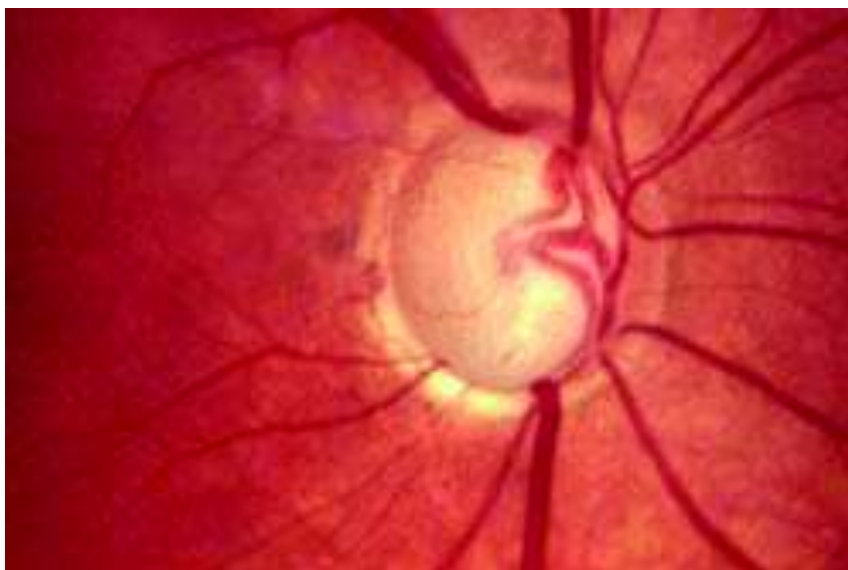
Os tecidos que podem estar danificados no glaucoma incluem a córnea, a íris, o cristalino, a retina e o nervo óptico. A anormalidade do nervo óptico assume muitas formas em pacientes com glaucoma. Uma das mais importantes é a depressão do nervo óptico em forma de tigela chamada “escavação”, que pode ser detectada olhando-se dentro do olho (Hattenhauer et al., 1998).

A escavação do nervo óptico é um dos sinais importantes da presença do glaucoma. O simples fato de uma pessoa ter um nervo óptico escavado não significa necessariamente que ela tem glaucoma. No entanto, em geral, quanto maior a escavação, maior a

probabilidade de glaucoma. A figura 1 mostra um nervo óptico sem qualquer sinal de glaucoma, já a figura 2 mostra o nervo óptico depois de ter sido danificado pela pressão intra-ocular e ter se tornado “escavado” (Spaeth, 2006).



**Figura 1:** Nervo óptico (área circular central) normal sem sinais de “escavação”.  
Fonte: Spaeth, 2006.



**Figura 2:** Nervo óptico danificado pela pressão intra - ocular e “escavação” na área branca ao redor do círculo. Fonte: Spaeth, 2006.

A pressão intra-ocular acima de 21 mmHg é indicada como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do glaucoma (Sakata, 2006), mas outros fatores de risco como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica (Sakata et al., 2002), idade, miopia, etnia, hereditariedade e alimentação também podem estar relacionados ao desenvolvimento do glaucoma (Stamper, 1999; Lin et al., 2002).

Com o advento das técnicas de biologia molecular e o sequenciamento do genoma humano estudos de genética em oftalmologia permitiram a identificação de locos e genes associados com o glaucoma (Wiggs, 2001; Wirtz e Samples, 2003; Pache, 2007). A correlação entre o genótipo/fenótipo permitiu observar manifestações clínicas e respostas terapêuticas distintas de acordo com a alteração genética encontrada e o entendimento destas mutações gerando o avanço no entendimento das bases genéticas na oftalmologia, o que em particular, auxiliará no diagnóstico precoce, na fisiopatologia da lesão glaucomatosa e mesmo no tratamento por meio de terapia gênica ou convencional, reduzindo o risco de cegueira no futuro (Vasconcellos, 2001; Samples, 2003; Cella, 2005).

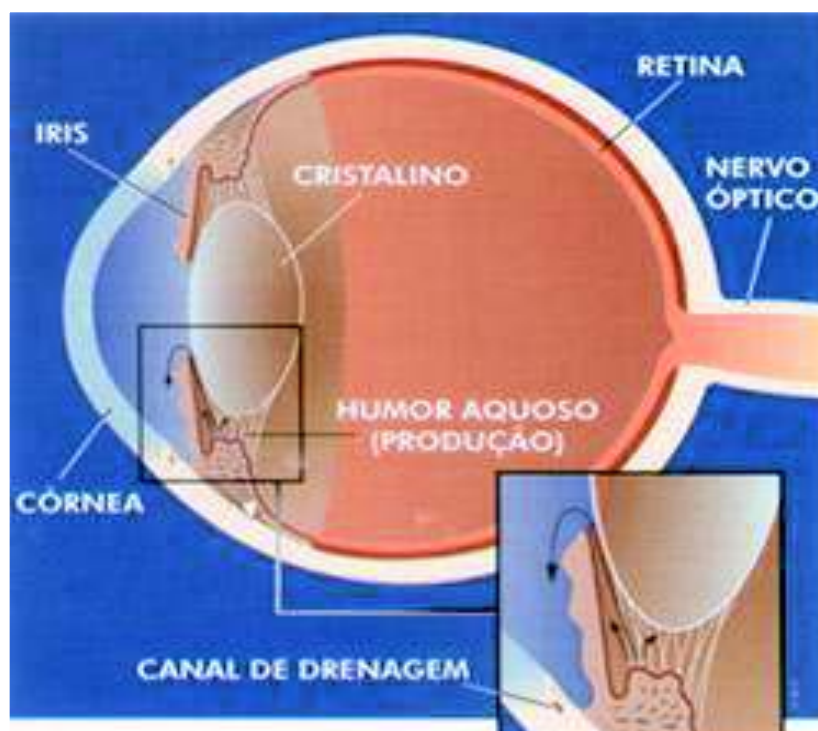
## **1.2. Glaucoma Primário de Ângulo Aberto**

O GPAA é descrito como uma neuropatia óptica progressiva, crônica e multifatorial que é caracterizada por uma perda das fibras do nervo óptico. Essa perda se desenvolve devido aberturas na câmara anterior do olho, levando a anormalidades no campo visual (Kwon et al., 2009).

O GPAA pode ser subdividido em: glaucoma de pressão normal e o glaucoma de pressão intra-ocular alta (Tavares e Mello, 2005). Em um terço dos casos de GPAA há PIO estatisticamente normal e são chamados de glaucoma de pressão normal (Werner, 1996). O GPAA de pressão normal é caracterizada pela diminuição das camadas de fibras nervosas

da retina, aumento da relação escavação/disco e deficiência no campo visual, porém sem evidência de elevação da PIO (Buono, 2002).

O GPAA de pressão alta é caracterizado pela evidência do aumento da PIO e sua principal causa é a obstrução do escoamento do humor aquoso do olho. O humor aquoso é produzido no corpo ciliar do olho, fluindo através da pupila para a câmara anterior. A malha trabecular então drena o líquido para o canal de *Schlemm* e finalmente para o sistema venoso (Vasconcellos, 2001) [figura 3].



**Figura 3:** Canal de drenagem do humor aquoso em evidência.  
Fonte: Vasconcellos, 2001.

Todos os olhos possuem uma PIO que é causada pela presença de resistência ao fluxo do humor aquoso através da malha trabecular e do canal de *Schlemm* (Spaeth, 2006). Se a pressão intra-ocular for alta, ou seja, maior que 22 mmHg resultará na compressão das estruturas oculares. Entretanto, outros fatores como perturbações no fluxo sanguíneo no nervo óptico podem interagir com a PIO e afetar o nervo óptico (Betinjane et al., 2005). O

GPAA geralmente é assintomático e o diagnóstico clínico é realizado pela aferição da PIO e fundamenta-se na observação do seio camerular aberto sem alterações além da observação de alterações características do nervo óptico e de fibras nervosas indicativas de glaucoma (Betinjane et al., 2005). De acordo com as projeções dos anos de 2010 a 2020, um total de 60,5 milhões de pessoas no mundo manifestarão o GPAA (Quigley e Broman, 2006).

Quando o glaucoma é diagnosticado entre 3 a 35 anos de idade, geralmente é agressivo e com PIO elevada, a doença em geral se comporta com padrão de herança autossômica dominante e é chamado de glaucoma primário de ângulo aberto juvenil (do inglês *Juvenile Open-Angle Glaucoma, JOAG*) ou glaucoma primário de ângulo aberto de início precoce. Quando a doença é diagnosticada após os 35 anos, tem curso insidioso e o padrão de herança não está bem definido é chamado de glaucoma crônico simples ou GPAA do adulto. Estes dois quadros clínicos já foram considerados doenças diferentes, entretanto, atualmente, tende-se a admitir como a mesma doença (Morissette et al., 1995; Pova et al., 2006).

A prevalência do GPAA em populações brasileiras foi analisada no estudo de Ghaenem (1989), que avaliou 8.061 pessoas com mais de 20 anos de idade em Joinville - Santa Catarina. Este estudo demonstrou a prevalência de 1,48% a partir de 20 anos; 1,75% quando se consideravam glaucomatosos a partir de 40 anos de idade, subindo para 2,07% acima dos 50 anos.

O glaucoma em suas várias formas de manifestação, apresenta padrões de herança que vão da segregação mendeliana dominante ou recessiva a formas de herança multifatorial ou complexa (Libby et al., 2005; Gjessing e Lie, 2008). Estudos buscam compreender o papel de locos identificados no glaucoma com o padrão de herança mendeliana e manifestação do fenótipo complexo (Wiggs, 2007).

Locos genômicos identificados por mapeamento de ligação analisaram genes candidatos para os estudos de associação em amostras populacionais buscando entender as possíveis contribuições destes genes na variação do risco do desenvolvimento do glaucoma (Craig et al., 2001; Park et al., 2007).

### 1.3. Genes candidatos para o Glaucoma Primário de Ângulo Aberto

Várias regiões do genoma foram mapeadas associadas ao GPAA (Tabela I). Três genes foram identificados, entre eles o *MYOC* (Miocilina), *OPTN* (Optineurina) e *WDR36* (WD repetição protéica 36), associados diretamente a causa e desenvolvimento do GPAA (Raymond, 1997; Hauser et al., 2006; Hogewind et al., 2007).

O gene *TIGR/MYOC* (OMIM 601652) e a proteína miocilina foram os primeiros a serem descritos como associados ao GPAA. Este gene está situado no loco *GLC1A* (1q21-q31) e foi descrito em 1997 por Stone et al., (1997). O gene *MYOC* chamava-se gene *TIGR* (do inglês *Trabecular Meshwork-Inducible Glucocorticoid Response*) resposta da malha trabecular induzida por glicocorticóides, ele foi inicialmente identificado em culturas de células da rede trabecular incubadas com corticóides (dexametasona), ao serem comparadas com as células do grupo controle, não incubadas com corticóides. Observou-se então, a formação de um material protéico/glicoprotéico no grupo incubado com o corticóide. Esta mutação foi associada à produção da proteína/glicoproteína pelas células da rede trabecular (Sheffield et al., 1993; Alward et al., 1996; Sunden et al., 1996; Nguyen et al., 1998; Shepard et al., 2001; Fingert et al., 2002; Mackay et al., 2008). Posteriormente, essa alteração foi observada em pacientes com glaucoma juvenil e glaucoma adulto. Simultaneamente a essas experiências, foi descrito o gene *MYOC*, razão de o gene ser conhecido por *TIGR* ou *MYOC*. Alguns autores também o denominam como

gene *GLCIA*, por ter sido o primeiro gene mapeado em casos de GPAA (Stone et al., 1997). A Sigla “GLC” é considerada pela *Human Genoma Database* (HUGO) para a classificação do glaucoma sendo estes 1- ângulo aberto, 2- ângulo fechado e 3- congênito (Raymond, 1997; Póvoa, 2006).

**Tabela I:** Genes e locos associados ao Glaucoma

<b>Loco</b>	<b>Região</b>	<b>Gene</b>	<b>Tipo de Glaucoma</b>
GLC1E	10p15-14	<i>OPTN</i>	GPAA
	1q23-25	<i>MYOC/TIGR</i>	GPAA
	9q22		GPAA
GLC1A	20p12		GPAA
	1q21-31	<i>MYOC/TIGR</i>	JOAG
	6p25	<i>FKHL7</i>	
GLC1B	2cen-q13	<i>MYOC/TIGR</i>	GPAA
GLC1C	3q21-24	<i>MYOC/TIGR</i>	GPAA
GLC1D	8q23	<i>MYOC/TIGR</i>	GPAA
GLC1G	5q21.3-22.	<i>WDR36</i>	GPAA
GLC1F	7q35-36		
GLC1I	15q11-13		
GLC1J	9q22		
GLC1k	20p12		
	15q24.	<i>LOXL1</i>	
GPDS2	18q11-2		
GLC3A	2p22-21	<i>CYP1B1</i>	Glaucoma congênito
RIEG1	4q25	<i>PITX2</i>	
RIEG2	13q14		
IRID1	11p13	<i>PAX 6</i> <i>FOXC1</i>	
	6p25	<i>(FKHL7)</i>	
	4q25	<i>PITX</i>	
IRID2	10q25	<i>PITX3</i>	
	4q25	<i>PITX2</i>	
	1 11p?	<i>VMD2</i>	
NNO	11q23. 3	<i>MFRP</i>	
AN2	11p13	<i>PAX 6</i>	
PPCD1	20p11.21-	<i>VSX 1</i>	
PPCD2	q11.23	<i>COL8A2</i>	
	1p34.3-32.3		
	10p11.2		
PPCD3	4q25-q26	<i>PITX2</i>	
	2p22-p21	<i>CYP1B1</i>	
	6p25	<i>FOXC1</i>	
	13q31-32		
	14q32		
	15q21	<i>FBNI (Fibrilin)</i>	
	5q13-14	<i>WGN1</i>	

Fonte: OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*



Mutações no gene *TIGR/MYOC* são a causa mais frequente de cegueira com base molecular conhecida. A proteína miocilina é produzida em grandes quantidades na malha trabecular, esclera, corpo ciliar e íris e em menor quantidade na retina e nervo óptico. A expressão da miocilina é induzida pelos esteróides, fatores de crescimento beta e o estiramento mecânico (Adam et al., 1997; Stone et al., 1997; Fingert et al., 1998; Nguyen et al., 1998; Tomarev e Malyukova, 2003; Tamm e Fuchshofer, 2007; De Voogd et al., 2008).

No Brasil, estudos em pacientes com glaucoma juvenil identificaram uma nova mutação (Cys433Arg) no gene *TIGR/MYOC* não observada em outras populações, sendo a mutação mais comum na população brasileira (Vasconcellos, 2001).

O segundo gene associado ao GPAA é o *OPTN* (OMIM 602432) (do inglês *Optineurin*). Esse gene está situado no loco GLC1E, na região 10p14-15 com mutações em indivíduos que apresentam pressão ocular normal (Rezaie et al., 2002; Tink et al., 2008). A proteína OPTN é encontrada na retina, estrutura trabecular e em tecidos do globo ocular além de outros tecidos adjacentes (Rezaie et al., 2002; Hauser et al., 2006; Lopez-Martinez et al., 2007). Alterações alélicas no gene *OPTN* causam atrofia no nervo óptico e degeneração das células ganglionares da retina (Alexander et al., 1991; Yao et al., 2006).

A associação da proteína OPTN a interação com outras proteínas sugere que esta proteína tem significativa função biológica no desenvolvimento normal do olho, nos processos de interação proteína-proteína além do possível tráfego e secreção de outras proteínas intracelulares. As informações obtidas das características básicas da proteína OPTN bem como o processo molecular nas mutações ocorridas no gene *OPTN* contribuem para neuropatias glaucomatosas do nervo óptico (Tink et al., 2008). O gene *OPTN* é expresso na rede trabecular, no epitélio ciliar não pigmentado, na retina e no cérebro,

parece desencadear o processo de apoptose nas células ganglionares com um padrão autônomo dominante (Rezaie et al., 2002; Tink et al., 2008).

Estudos recentes encontraram a mutação OPTN-E50K exclusivamente associada com a forma familiar de glaucoma. Estudos clínicos evidenciaram que essa mutação está associada com a forma mais severa do GPAA (Alward et al., 2003; Aung et al., 2003; Hauser et al., 2006). Investigações sobre mutações nesse gene em diversos grupos de pacientes com glaucoma têm sido realizadas para elucidar os mecanismos biológicos das formas mutantes das proteínas envolvidas na patogênese do glaucoma (Rezaie et al., 2002; Tink et al., 2008).

E o mais recente gene descoberto associado ao GPAA é o *WDR36* (OMIM 609669). O gene *WDR36* (do inglês *WD repeat domain 36 protein*) ou repetição protéica 36 está situado no loco GLC1G, na região 5q21.3 (Monemi et al., 2005; Kramer et al., 2006). Embora sua função ainda seja desconhecida, estudos sugerem que mutações na região promotora do gene causam mudanças severas no desenvolvimento da doença (Kramer et al., 2006; Wiggs, 2007; Tink et al., 2008).

Outros genes como: *CYP1B1* (citocromo P450-1B1), *APOE* (apolipoproteína E), *PITX2* e *FOXC1*; apresentam mutações e estão sendo associados com GPAA congênito. A maioria dos fenótipos encontrados apresenta base genética com exceções aos casos de glaucoma causados por traumas, infecções ou intervenções cirúrgicas (Hauser et al., 2006; Wiggs, 2007).

Estudos também mostraram uma susceptibilidade genética do GPAA associada também ao polimorfismo dos genes das famílias das *Glutathione S-Transferases* na causa e desenvolvimento desta patologia (Juronen et al., 2000; Yildirim et al., 2005; Ünal et al., 2007). Esta enzima catalisa o ataque nucleofílico da glutathione em uma variedade de componentes incluindo carcinógenos, agentes mutagênicos, drogas citotóxicas

promovendo a detoxificação da reação oxidativa (Mannervik e Danielson, 1988; Hayes e Strange, 1995) e excreção facilitada das glutathionas conjugadas, levando à neutralização de compostos tóxicos e xenobióticos.

#### **1.4. Xenobióticos e sua metabolização no organismo humano**

Os seres vivos estão continuamente expostos a compostos químicos naturais e/ou não-naturais. Estes compostos são denominados xenobióticos e podem interagir de maneira deletéria ao organismo (To-Figueras et al., 2001).

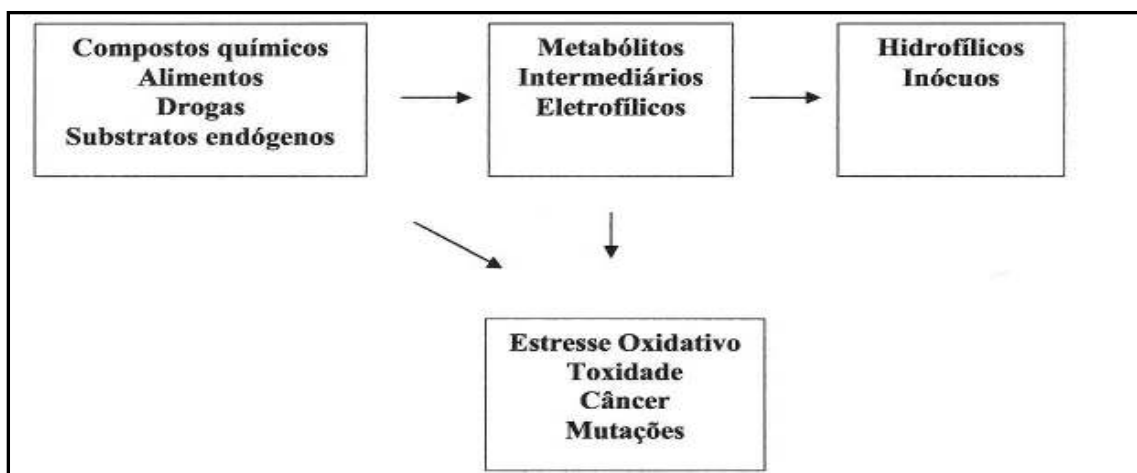
Os principais xenobióticos de relevância médica são os fármacos, os carcinógenos químicos, inseticidas, policlorados bifenila, aditivos alimentares, entre outros. A grande maioria destes compostos está sujeita à biotransformação no organismo humano. O fígado é o principal órgão envolvido nesse processo, contudo, pode ocorrer, em menor grau, a biotransformação no intestino, pulmão, rim, entre outros (Sheehan et al., 2001).

O metabolismo de xenobióticos é dividido em duas fases distintas da biotransformação. Ao entrar na célula, as substâncias são inicialmente metabolizadas pelas enzimas de fase I, geralmente, por uma reação de oxidação que introduz um centro eletrofílico na molécula. A criação do centro reativo permite que as enzimas de fase II conjugem o metabólito eletrofílico com várias moléculas endógenas (por exemplo, glutathiona) que resulta num metabólito final hidrofílico que, em populações humanas, é eliminado do organismo através da urina ou do bolo fecal. Em muitas situações a toxicidade do xenobiótico é reduzida ou eliminada durante a fase de metabolização. Contudo, em alguns casos a toxicidade aumenta. A atividade das enzimas que biotransformam os xenobióticos é influenciada pela idade, sexo e fatores genéticos (Arruda et al., 1998).

Na fase I de biotransformação, a principal reação envolve a hidroxilação, mas podem ocorrer outros tipos de reações, tais como redução e hidrólise (Salama et al., 2001).

Na fase II de biotransformação, os derivados hidroxilados, ou outros compostos produzidos na fase I, são convertidos em vários produtos de biotransformação polares, por enzimas específicas tais como glutathione S-transferases, sulfatos, acetatos, aminoácidos ou por metilação (Salama et al., 2001).

A grande maioria dos estudos feitos com genes de susceptibilidade envolve os genes de fase I da família citocromo P450 (CYP450) e os genes de fase II da família da Glutathione S-transferases (GSTs). A Figura 4 mostra a interação entre as enzimas metabolizadoras de fase I e II e o modo como elas contribuem para a toxicidade e mutação (Rossi et al., 1999).



**Figura 4:** Interação entre as enzimas metabolizadoras de fase I e II e o modo como elas contribuem para a toxicidade e mutação (Rossi et al., 1999).

Lang e Pelkonen (1999) consideraram surpreendente que enzimas, cuja função é proteger o organismo da ação tóxica de xenobióticos, aumentem a toxidade dos mesmos em algumas situações. Sugeriram ainda que, sob o ponto de vista evolutivo, estes sistemas enzimáticos devem ter fornecido uma vantagem adaptativa aos organismos protegendo-os da ação de substâncias externas e potencialmente prejudiciais. A geração de metabólitos

tóxicos seria uma consequência secundária deste processo. A função primária das enzimas seria a de solucionar o problema agudo de acúmulo de compostos potencialmente letais ao organismo. Alguns autores sugerem ainda que a diversidade observada nos sistemas enzimáticos entre as diferentes populações seria resultante da seleção que teria atuado sobre diversos tipos de dietas experimentadas pelas populações humanas ao longo de sua história (Nebert, 1997 e Lewis et al., 2002).

### **1.5. Família das Glutathione S-Transferases**

A família de isoenzimas glutathione S-transferases (GSTs) é composta por proteínas diméricas solúveis e multifuncionais que podem se conjugar a moléculas eletrofilicas tornando-as menos tóxicas (Strange et al., 2001).

Compreende uma família que inclui 16 genes em sete subfamílias: *Alpha*, *Mu*, *Omega*, *Pi*, *Sigma*, *Theta* e *Zeta* (Board et al., 1997). Estima-se que existam pelo menos 20 tipos de GST na espécie humana, presentes no citoplasma microssomal e mitocôndrias, sendo expressas em altos níveis no fígado (Strange et al., 2001). As GSTs microssomais são diferentes das GSTs na forma solúvel e foram identificadas duas GSTs microssomais: uma enzima trimérica que conjuga o xenobióticos com a glutathione; e outra enzima distinta – a leucotrieno C4 sintetase – que participa na síntese de leucotrienos (Izzotti et al., 2006).

No homem foram identificados os locos GSTA, GSTM, GSTT, GSTP e GSTZ e os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* são os mais analisados na suscetibilidade a doenças ambientais (Strange et al., 1998). A deleção nos genes *GSTM1* leva a redução ou ausência da enzima, possuindo distribuição heterogênea em diversas populações e alguns estudos têm demonstrado associação do polimorfismo da GST com o GPAA em diferentes populações (Juronen et al., 2000; Izzotti et al., 2006; Ünal et al., 2007; Rocha et al., 2011).

As GSTs estão presentes em várias estruturas oculares, incluindo humor aquoso, corpo ciliar e cristalino. A formação de metabólitos tóxicos pode induzir trocas na estrutura de proteínas presentes no humor aquoso e malha trabecular ocasionando diminuição do fluxo e aumento da PIO (Izzotti et al., 2006).

As glutathione S-transferases são partes importantes no sistema de detoxificação celular e estão envolvidas no processo do estresse oxidativo celular causado por acúmulo de espécies reativas de oxigênio (do inglês *Reactive Oxygen Species* – ROS) [Yildirim et al., 2005].

O estresse oxidativo celular é uma condição biológica em que ocorre um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a sua desintoxicação através de sistemas biológicos que as removem ou reparam os danos por elas causados. Todos os organismos vivos possuem um ambiente intracelular de natureza redutora, existindo um equilíbrio entre as formas oxidada e reduzida de moléculas, equilíbrio esse mantido por enzimas à custa de energia metabólica. Perturbações neste equilíbrio podem provocar a produção de peróxidos e radicais livres que danificam todos os componentes celulares, incluindo proteínas, lípidos e o DNA (Schafer e Buettner, 2001).

O estresse oxidativo e os sistemas antioxidantes são potencialmente importantes para os tecidos oculares que se regeneram lentamente, aumentando o risco de acúmulo de toxinas que podem causar danos ao tecido. Esses danos causam alterações moleculares que contribuem para o desenvolvimento do glaucoma, catarata e doenças relacionadas à idade (Yildirim et al., 2005). O acúmulo e a toxicidade são evitados através de enzimas que os reconhecem e metabolizam em formas hidrofílicas que são facilmente eliminadas do organismo. Desse modo, o olho precisa de um eficiente sistema de redução, bem como enzimas de desintoxicação. O epitélio ocular expressa genes que codificam as enzimas

GSTs e outras envolvidas no ciclo de glutathione, como glutathione peroxidase (Wilkinson e Clapper, 1997; Hasler et al., 1999)

Exposição à luz por meio de substâncias fotossensibilizante pode levar à formação de espécies reativas de oxigênio (Wiggs et al., 2000). Substâncias químicas que produzem reações fotossensibilizantes podem ser classificadas como fotoalergias ou reações de fototoxicidade. As fotoalergias são reações imunológicas que se caracterizam porque a substância fotossensibilizante absorve radiação UV, originando um produto com poder antigênico. Já as reações de fototoxicidade são resultado de reações físico-químicas sobre a substância fotossensibilizante, que absorve um determinado comprimento de onda da radiação UV e transmite essa energia captada para as células. Exemplos de medicamentos fotossensibilizantes mais comuns são: peróxido de benzoíla, carbamazepina, captopril, trimetoprim, bleomicina, 5-fluoruracil e o cobalto (Passos et al., 2003).

Estudos epidemiológicos sugerem que a suscetibilidade individual a doenças oculares podem estar correlacionadas ao sistema GST (Yildirim et al., 2005). Dentre as proteínas citosólicas as *GSTM1* e *GSTT1* são as que possuem maior correlação com o glaucoma (Ünal et al., 2007).

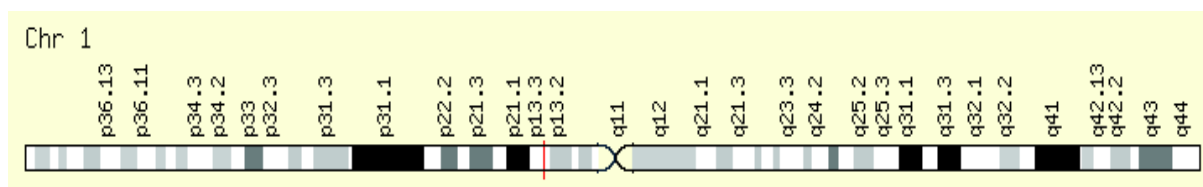
Grande parte das informações existentes sobre os efeitos dos polimorfismos de GSTs na susceptibilidade individual a carcinógenos químicos relaciona se com as isoenzimas *GSTM1* e *GSTT1*; este grupo de enzimas participa no metabolismo de uma ampla faixa de carcinógenos e constituem uma das principais rotas do metabolismo das ROS (Moreno et al., 2004).

Os genes *GSTM1* e *GSTT1* mostram uma elevada variabilidade em humanos. Cerca de 50% da população caucasiana apresenta um genótipo nulo (sem atividade enzimática) para o gene *GSTT1* (Pemble et al., 1994). Este fenótipo nulo é produto de uma deleção em ambos os alelos. Estudos na América Latina, em populações do Brasil demonstraram

frequências de 33% (Grégio D'Arce e Colús, 2000) e de 41,2% (Cabral et al., 1999) para o genótipo *GSTM1* nulo.

### 1.5.1 Genes *GSTM1*

Cinco genes distintos para *GSTM*, da classe mu ( $\mu$ ), foram identificados: *GSTM1*, *GSTM2*, *GSTM3*, *GSTM4* e *GSTM5*. Dentre estes, o gene *GSTM1* (OMIM 138350) que possui 5926 pb e está mapeado no loco 1p13.1 (Abu-Amero et al., 2008) [Figura 5].



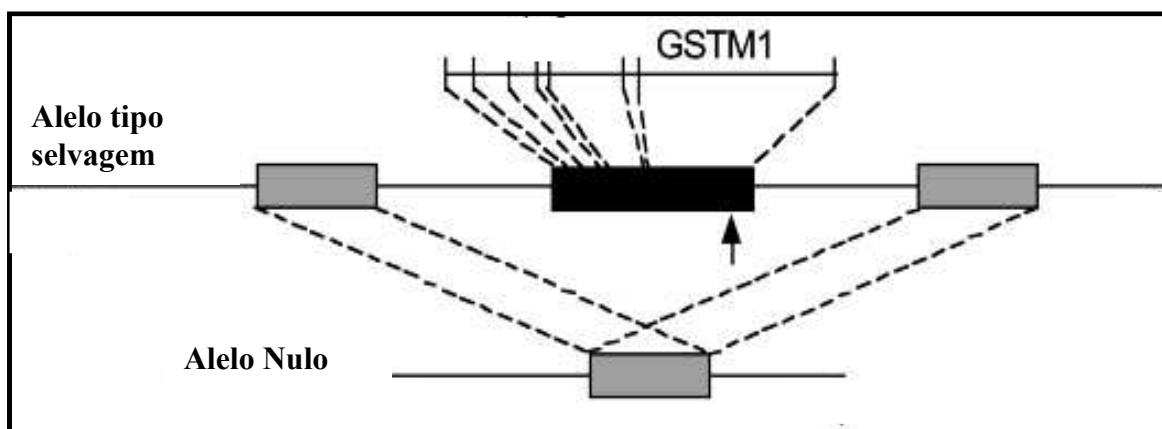
**Figura 5:** Localização genômica do gene *GSTM1* marcado pelo traço em vermelho. Fonte: <http://www.omim.org/entry/138350>.

O gene *GSTM1* é polimórfico possuindo dois alelos funcionais (*GSTM1*\*A e *GSTM1*\*B), 8 exóons e um alelo com atividade nula por deleção (*GSTM1*\*0). A proteína *GSTM1*A contém uma lisina na posição 172, enquanto a proteína *GSTM1*B contém asparagina nesta posição e os alelos possuem a mesma eficácia de detoxificação (Xu et al., 1998). O genótipo *GSTM1* nulo possui uma deleção no gene que codifica uma proteína *GSTM1*A/B. Os alelos podem se combinar formando genótipos heterozigotos (*GSTM1*AB, *GSTM1*B<sup>-</sup> e *GSTM1*A<sup>-</sup>) e homozigotos (*GSTM1*AA, *GSTM1*BB ou *GSTM1*<sup>-</sup>) (Strange et al., 1998).

Quando pelo menos um dos alelos é funcional o genótipo é considerado presente (*GSTM1*<sup>+</sup>) e apresenta a mesma eficiência de detoxificação. E o genótipo é considerado nulo devido sua deleção (*GSTM1*<sup>-</sup>) [Seidegard et al., 1988; Pearson et al., 1993], frequentemente presente em ambos os alelos no genótipo homozigoto nulo, resultado de



uma recombinação homóloga devido a proximidade física dos genes *GSTM1* e *GSTM2* envolvendo repetições de 4,2 kb em 5' e 3' (Xu et al., 1998) deletando precisamente 16 kb contendo todo o gene, permanecendo os genes adjacentes intactos (Figura 6). Abu-Amero et al., (2008), sugerem ainda que o gene foi criado através de retrotransposição.



**Figura 6:** O gene *GSTM1* (caixa preta) é composto por oito exons, que variam em tamanho de 36-112 pb, enquanto que os íntrons variam de 87-2641 pb. Está inserido em uma região com grande homologia ladeado por duas regiões quase idênticas de 4,2 kb (caixas cinza). A parte inferior da figura exemplifica o alelo nulo originado por recombinação homóloga dos 4,2- kb em 5' e 3'. Fonte: Modificado de Roodi et al., 2004.

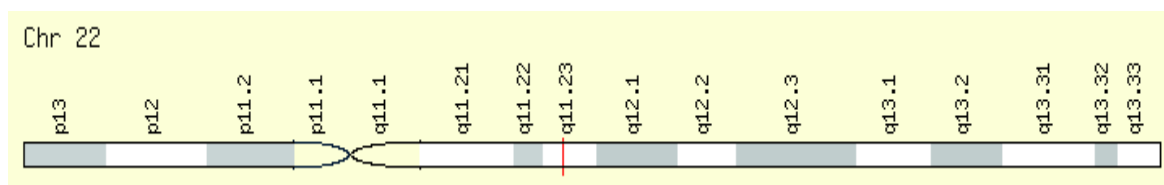
A enzima *GSTM1* catalisa a conjugação dos produtos de metabolização de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos com os derivados epóxidos, principal carcinógenos encontrado na fumaça do tabaco (Strange et al., 1998). Indivíduos *GSTM1* nulos exibem ausência da atividade enzimática e Millikan et al., (2000) sugerem que eles possuem um risco aumentado para efeitos de uma grande variedade de carcinógenos ambientais.

Juronen et al., (2000), verificaram que o genótipo *GSTM1* presente foi um fator de risco para o desenvolvimento de GPAA. Acredita-se que vários fatores podem explicar a associação entre o genótipo *GSTM1* presente e o GPAA. Além da *GSTM1* catalisar reações de desintoxicação também pode participar de reações que resultam em produtos tóxicos,

que podem causar mudanças estruturais nas proteínas presentes na malha trabecular e no humor aquoso possibilitando o GPAA, ou seja, indivíduos com genótipo *GSTM1* presente estariam predispostos ao desenvolvimento do glaucoma (Ünal et al., 2007). Outros estudos sugerem ainda que o *GSTM1* presente seria um fator de proteção para o desenvolvimento do glaucoma (Izzotti et al., 2003; Yildirim et al., 2005; Rocha et al., 2011).

### 1.5.2 Genes *GSTT1*

Existem dois genes da classe theta ( $\theta$ ): *GSTT1* localizado no loco 22q11.13 e *GSTT2* na mesma banda do cromossomo (22q11.2) produzindo uma proteína com 55% de similaridade a *GSTT1*, mas ambos possuem 5 éxons com divisões idênticas de íntron/éxon (Figura7) [Strange et al., 1998].



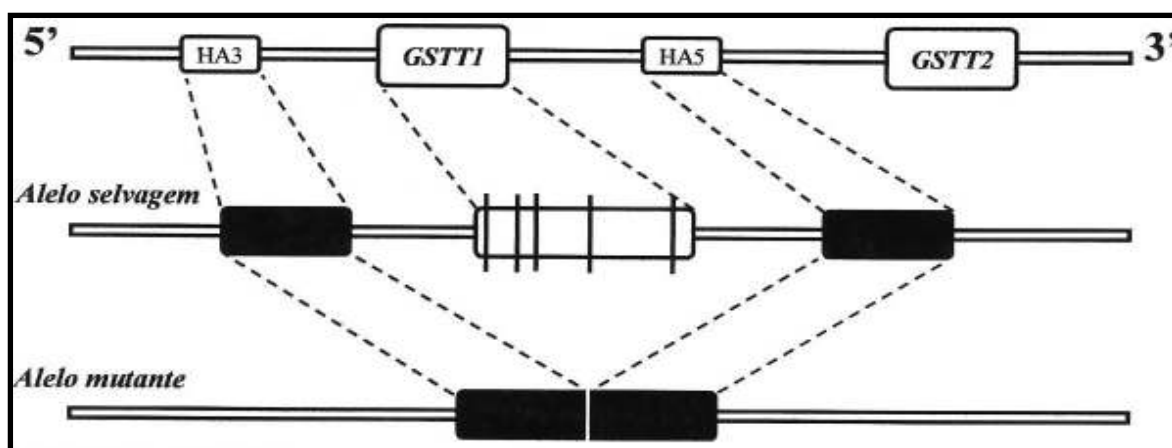
**Figura 7:** Localização genômica do gene *GSTT1* marcado pelo traço em vermelho. Fonte: <http://www.omim.org/entry/600436>

O *GSTT1* (OMIM 600436) é representado por dois alelos: um alelo presente (*GSTT1\*1*) e um nulo (*GSTT1\*0*). Estudos têm demonstrado que o alelo *GSTT1\*0* corresponde a uma supressão total ou parcial do gene, causando uma deficiência na atividade enzimática (Figura 8), relacionada ao processo de detoxificação em pequenos hidrocarbonetos reativos, como o óxido de etileno (Pemble et al., 1994; Puga et al., 1997).

O polimorfismo nulo do gene *GSTT1* resulta na falta da proteína ativa e mostram que 20 a 60% dos indivíduos apresentam essa deleção do gene (Sprenger et al., 2000). [Figura 8]. Análises revelaram 2 regiões franqueadoras (HA3 e HA5) contendo duas

repetições idênticas de 403 pb, que foram identificadas como regiões deleção/junção do *GSTT1* nulo. (Sprenger et al., 2000).

O genótipo *GSTT1* nulo também foi relatado por alguns estudos associado a uma tendência maior para certas doenças incluindo câncer e lesões pré-cancerosas (Nakajima et al., 1995; König-Greger et al., 2004; Boccia et al., 2006).



**Figura 8.** Desenho esquemático mostrando as posições dos genes da classe Teta de *GST*, no cromossomo 22, e a representação do alelo selvagem e mutante do gene *GSTT1*. Fonte: da Silva-Júnior, 2008.

Pemble et al., (1994), demonstraram que o gene *GSTT1* está ausente em 38% da população em geral. A ausência da enzima implica na falta de detoxificação de uma série de compostos como os halometanos sintéticos e outros químicos industriais. Descreveram ainda que as frequências do *GSTT1* nulo em relação ao GPAA descritas na literatura são menores do que as descritas para o *GSTM1* nulo e há uma baixa variação entre diferentes grupos étnicos.

O *GSTT1* é altamente conservado durante a evolução e tem um importante papel na biotransformação de fase II de muitos fármacos e produtos químicos industriais, por exemplo, drogas citostáticas, hidrocarbonetos e hidrocarbonetos halogenados. Muitas evidências sugerem que *GSTT1* e *GSTM1* humanas participam de desativação de ROS que

estaria envolvida nos processos celulares de inflamação, envelhecimento e doenças degenerativas (Bailey et al., 1998).

Desse modo, a variabilidade individual de genes relacionados aos processos de ativação e detoxificação metabólica parece crucial na suscetibilidade ao desenvolvimento do GPAA. Devido à alta frequência do genótipo nulo na maioria das populações analisadas em geral, que variam entre grupos étnicos e a etiologia da doença, a distribuição alélica deste gene tem sido muito estudada (Juronen et al., 2000; Izzotti et al., 2003; Ünal et al., 2007).

## 2. JUSTIFICATIVA

O glaucoma é uma neuropatia óptica complexa que afeta aproximadamente 70 milhões de pessoas em todo mundo tornando-se a segunda causa mais comum de cegueira irreversível (Thylefors e Negrel, 1994; Rassinotis, 2005).

A incidência do GPAA está aumentando conforme o 3º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto (Paranhos-Júnior et al., 2009). No Brasil existem cerca de 900.000 portadores que necessitam de diagnóstico precoce para que sua qualidade de vida não seja comprometida evoluindo para cegueira. Cerca de 13,5 milhões de pessoas acima dos 40 anos possuem glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) e estão principalmente distribuídos na China, África e Índia. A tendência é aumentar significativamente o número de portadores para os anos vindouros pelo aumento da longevidade.

O GPAA tornou-se um grande problema de saúde pública, causando impacto econômico mensal de 29,1% sobre o valor do salário mínimo, devido ao elevado preço dos colírios utilizados no tratamento (Stillitano et al., 2003), o que estimula estudos na área da genética em busca de resultados para combater esta doença.

A atuação da genética na medicina quanto ao diagnóstico e tratamento de doenças como o câncer, apresenta resultados promissores quando comparados aos estudos em oftalmologia. Atualmente, estudos sobre associação genética e o desenvolvimento do glaucoma encontram-se restritos as pesquisas no ambiente acadêmico, como outrora foi em outras especialidades. É certo que, no futuro, os avanços conseguidos nos laboratórios estarão à disposição dos oftalmologistas, proporcionando auxílio no diagnóstico, no aconselhamento genético, no acompanhamento dos pacientes e no tratamento de doenças como o glaucoma.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar o perfil genotípico do polimorfismo dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes portadores de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto e grupo controle na cidade de Goiânia.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Analisar o polimorfismo dos genes *GSTT1* e *GSTM1* no grupo glaucoma e no grupo controle;
- Estabelecer o genótipo mais frequente relacionado ao GPAA na população estudada;
- Verificar as possíveis associações entre os genótipos *GSTM1* e *GSTT1* e os fatores de risco: gênero, etnia, tabagismo e o etilismo no grupo glaucoma e no grupo controle.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Casuística

Foram coletadas amostras de sangue periférico (10mL) de 100 pacientes comprovadamente diagnosticados como portadores de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto (GPAA) e o grupo controle com exames oftalmológicos dentro dos padrões considerados normais que corresponderam a 53 amostras. A coleta de sangue foi realizada na Pronto Clínica de Olhos em Goiânia e a análise genética molecular foi realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon-PUC-Goiás.

Os critérios de inclusão para o grupo glaucoma foram: paciente com GPAA, com escavação maior que 0,6 e/ou assimetria de escavação maior que 0,2; pressão intra-ocular maior que 21 mmHg, alterações campimétricas sugestivas de dano glaucomatoso, biomicroscopia com ausência de infecção, catarata ou cirurgias oftalmológicas prévias, gonioscopia com seio amplo (*Shaffer* grau 4, ou seja, visualização de todas as estruturas do seio). E os critérios de inclusão do grupo controle foram não apresentarem glaucoma.

Todos os pacientes responderam a um questionário (Anexo I) com dados relativos a nome, etnia, hábito de fumar e o hábito de ingerir bebida alcoólica. O Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo II) foi assinado aceitando participar da pesquisa. O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos CEP/PUC GOIAS (FR160294) [Anexo III].

### 4.2. Análises Moleculares

A extração de DNA genômico das amostras de sangue periférico foi realizada conforme as instruções do Kit comercial *Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin*® (GE

*Healthcare, USA*). A integridade do DNA foi certificada por eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo (0,5mg/mL) e visualizado no Sistema de Vídeo Documentação VDS® (*Amersham Biosciencs, Biotech, USA*).

Após a extração do DNA as amostras foram submetidas à amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês, *Polymerase Chain Reaction* – PCR) alelo-específica para detectar o polimorfismo dos genes *GSTMI* e *GSTTI*. Três reações foram realizadas por paciente: a) utilizando o *primer* para o gene *GSTMI* e *GSTTI* segundo Abdel-Rahma et al., (1996); c) utilizando o *primer* para o gene *ZFX/ZFY* (Arruda et al., 2008), como controle interno para presença de DNA humano evitando os falsos negativos (Tabela II), sendo todos feitos em duplicatas.

As reações de PCR foram realizadas de acordo com o protocolo proposto por Frare (2011). O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2%, em um campo elétrico de 10 V/cm e corado com brometo de etídeo (5µg/mL) sendo visualizado em seguida no VDS®. Indivíduos com genótipo presentes foram classificados quando em presença de banda, ou seja, com uma ou duas cópias do alelo do gene e aqueles sem bandas, com ausência de alelos homozigótica, como genótipo nulo.

A PCR para o gene *GSTMI*, *GSTTI* e *ZFX/Y* foi realizada em um volume total de 25 µL, contendo 1,5 mM de cloreto de magnésio, 1,25 U/µL de cada deoxinucleotídeo trifosfato, 1,5U/µL de Taq polimerase, 20 pmol de *primer* e aproximadamente 100ng/µL de DNA genômico. (Tabela: III, IV).

O protocolo de termociclagem do gene *GSTMI* e *GSTTI* foi realizado com desnaturação inicial de 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, 57°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e uma extensão final a 72°C por 7 minutos (Tabela V).



**Tabela II:** Sequência dos *primers* e tamanho dos fragmentos esperados.

Gene	Sequência (5' - 3')	Tamanho do fragmento (pb)
<b><i>GSTM1</i></b>	F: 5' GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C 3' R: 5' GTT GGG CTA AAT ATA CGG TGG 3'	219 pb
Abdel-Rahma et al., 1996		
<b><i>GSTT1</i></b>	F: 5' TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC 3' R: 5' TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA 3'	480 pb
Abdel-Rahma et al., 1996		
<b><i>ZFX/Y</i></b>	F: 5' ACC RCT GTA CTG ACT GTG ATT ACT C 3' R: 5' GCA CYT CTT TGG TAT CYG AGA AAG T 3'	495 pb
Arruda et al., 2008		

**Tabela III:** Protocolo da PCR para amplificação do polimorfismo da *GSTM1* e *GSTT1*.

REAGENTES	[ ] UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão	1X	2,5 µL
Corante	1X	2,5 µL
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	2,0 mM	1,0 µL
dNTPs (25mM)	1,0 mM de cada	1 µL de cada = 4 µL
Taq polimerase 5U/µL	1,5 U/µL	0,3µL
Primer F	20 pMol	0,5 µL
Primer R	20pMol	0,5 µL
H <sub>2</sub> O Mili Q	q.s.p	11,7 µL
DNA amostra	100ng/µL	2 µL
<b>Volume final</b>		25 µL

q.s.p: quantidade suficiente para.

**Tabela IV:** Protocolo da PCR para amplificação do gene *ZFX/Y*.

REAGENTES	[ ] UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão	1X	2,5 µL
Corante	1X	2,5 µL
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	2,0mM	1,0 µL
dNTPs (25mM)	1,0 mM de cada	1 µL de cada = 4 µL
Taq polimerase 5U/µL	1,5 U/µL	0,3µL
Primer F	20 pMol	0,5 µL
Primer R	20pMol	0,5 µL
H <sub>2</sub> O Mili Q	q.s.p	11,7 µL
DNA amostra	100ng/µL	2 µL
<b>Volume final</b>		25 µL

q.s.p: quantidade suficiente para.

**Tabela V:** Protocolo de termociclagem para amplificação dos *primers GSTTI e GSTMI*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação	95°C	5	1
Amplificação cíclica	95°C	1	35
	57°C	1	
	72°C	1	
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C	∞	∞

O protocolo de termociclagem para gene *ZFX/ZFY* foi realizada com desnaturação inicial de 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e uma extensão final a 72°C por 7 minutos (Tabela VI).

**Tabela VI:** Protocolo de termociclagem para amplificação do *primer ZFX/ZFY*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação	95°C	5	1
Amplificação cíclica	95°C	1	35
	55°C	1	
	72°C	1	
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C	∞	∞

### 4.3. Análise estatística

Foi utilizado o software estatístico BioEstat<sup>®</sup> (versão 5.0, Ayres et al., 2007; Sociedade Civil Mimirauá/MCT – CNPq). A comparação da distribuição das idades entre os grupos de pacientes com glaucoma e pacientes controle foram realizados usando o teste de Mann Whitney. Neste estudo caso X controle foram avaliadas as frequências das variáveis: sexo, etnia, tabagismo e o etilismo usando o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Para análise do genótipo de risco foi avaliado também o teste de *Odds Ratio* com intervalo de confiança de 95% ( $\alpha=0,05$ ).

## 5. RESULTADOS

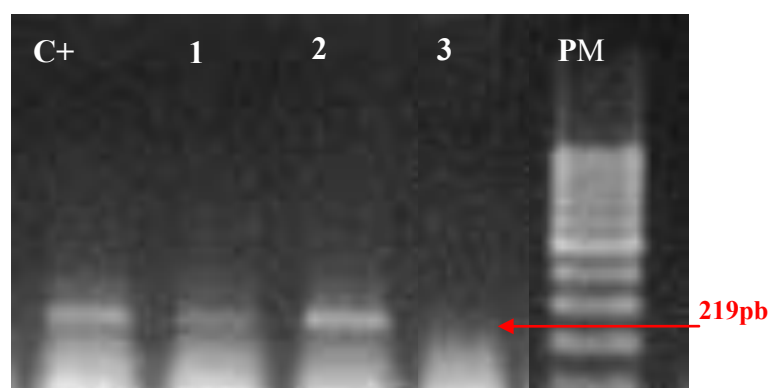
A média de idade observada no grupo glaucoma foi de 60,5 anos (DP  $\pm$  18,8), e a média do grupo controle foi de 44,7 anos (DP  $\pm$  16,4). A diferença das idades entre os grupos estudados foi estatisticamente significante ( $p < 0,0001$ ) [Tabela VII].

**Tabela VII:** Comparação entre as médias de idade entre o grupo glaucoma e o grupo controle.

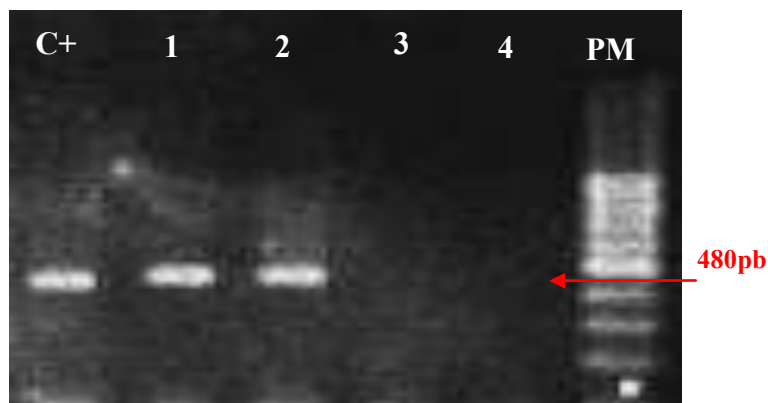
Grupo	Idade Média	DP	* <i>p</i>
Glaucoma (n=100)	60,5	18,8	< 0,0001
Controle (n=53)	44,7	16,4	

DP: Desvio Padrão. \*Valor de *p* do teste de Mann Whitney significante,  $p \leq 0,05$ .

Para a análise das amplificações dos polimorfismos os produtos obtidos pela PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% onde o genótipo *GSTMI* e *GSTTI* foram considerados presente quando o registro visual do gel apresentou apenas uma banda. A ausência de banda no registro visual do gel foi referente ao genótipo nulo (Figuras 9 e 10).

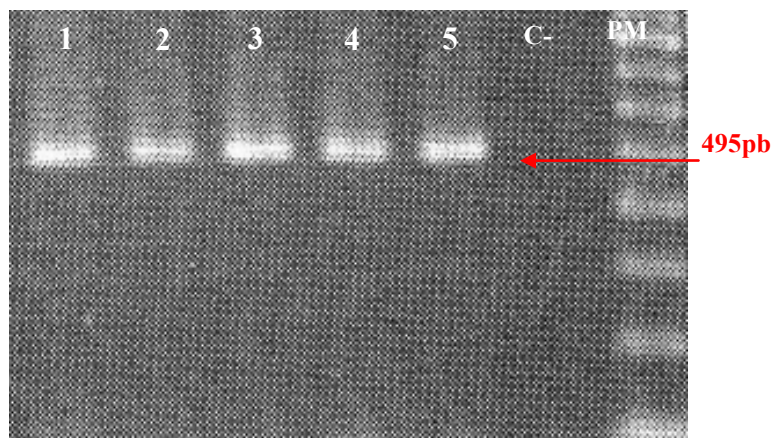


**Figura 9.** Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do gene *GSTMI* (219pb). C+: controle positivo; Poço 1 e 2: *GSTMI* positivo; Poço 3 e 4: *GSTMI* nulo. PM: peso molecular de 100pb.



**Figura 10.** Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do gene *GSTT1* (480pb). C+: controle positivo; Poço 1 e 2: *GSTT1* positivo; Poço 3: *GSTT1* nulo. PM: peso molecular de 100pb.

A ausência da amplificação do gene *GSTM1* ou *GSTT1* na presença do controle interno *ZFX/ZFY* foi considerada como genótipo nulo (Figura 11).



**Figura 11.** Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo, indicando o resultado da genotipagem do gene *ZFX/ZFY* (495pb). Poço 1 a 5: confirmação da presença de DNA humano C-: controle negativo da reação. PM: peso molecular de 100pb.

Foram analisadas as frequências genótípicas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* no grupo glaucoma e no controle. No grupo glaucoma (n=100) foram detectados 40% (40/100) dos pacientes com presença do gene *GSTM1*, 60% (60/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo e no grupo controle (n=53), foram detectados 72% (38/53) com presença do

gene *GSTM1* e 28% (15/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo. A frequência do gene *GSTM1* nulo no grupo glaucoma foi 2,12 vezes maior quando comparado ao grupo controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0004$ ) apresentando  $OR=0,3$  (IC= 0,1 – 0,5) [Tabela VIII].

Quando foi analisado o gene *GSTT1* nos pacientes do grupo glaucoma ( $n=100$ ) foram detectados 52% (52/100) com presença do gene *GSTT1* e 48% (48/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo e no grupo controle ( $n=53$ ) foram detectados 66% (35/53) com presença do gene *GSTT1* e 34% (18/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo. A frequência do gene *GSTT1* nulo no grupo glaucoma foi 1,4 vezes maior quando comparado ao grupo controle, sendo esta diferença não estatisticamente significativa ( $p=0,13$ ) apresentando  $OR=0,6$  (IC= 0,3 – 1,1) [Tabela VIII].

**Tabela VIII:** Frequência dos polimorfismos *GSTM1* e *GSTT1* no grupo glaucoma e no grupo controle.

Genótipo	Glaucoma		Controle		OR (IC 95%)	P
	%	N	%	N		
<b>GSTM1 presente</b>	40	40	72	38	0,3 (0,1 a 0,5)	0,0004*
<b>GSTM1 nulo</b>	60	60	28	15		
Total	100	100	100	53		
<b>Genótipo</b>						
<b>GSTT1 presente</b>	52	52	66	35	0,6 (0,3 a 1,1)	0,13
<b>GSTT1 nulo</b>	48	48	34	18		
Total	100	100	100	53		

GST - glutathione S-transferase. \*Valor estatisticamente significativo

Foram avaliadas as frequências dos genótipos agrupados dos genes *GSTM1* e *GSTT1* comparando-o com o grupo glaucoma e o controle, sendo que no grupo glaucoma ( $n=100$ ) foram detectados 23% (23/100) com ambas a presença dos genes *GSTM1/GSTT1*,

no grupo controle (n=53) foi detectado 47% dos indivíduos (25/53) com ambas a presença dos genes *GSTMI*/*GSTTI*. (Tabela IX).

No grupo glaucoma (n=100) foram detectados 17% (17/100) do gene *GSTMI* presente/*GSTTI* nulo e no grupo controle 24% (13/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTMI* presente/*GSTTI* nulo, sendo não estatisticamente significativa ( $p=0,60$ ) apresentando OR= 1,4 (IC= 0,5 – 3,5) [Tabela IX].

Nos pacientes do grupo glaucoma (n=100) foram detectados 29% (29/100) com o gene *GSTMI* nulo/*GSTTI* presente e no grupo controle foram detectados 19% (10/53) com gene *GSTMI* nulo/*GSTTI* presente, sendo estatisticamente significativa ( $p=0,02$ ), apresentando um OR de 3,1 vezes mais a chance de ocorrência da doença [Tabela IX].

Nos pacientes do grupo glaucoma (n=100) foram detectados 31% (31/100) com ambos os genes *GSTMI* nulo/*GSTTI* nulo, sendo que no grupo controle foram detectados 10% (5/53) com ambos os genes *GSTMI* nulo/*GSTTI* nulo (Tabela IX). Os pacientes do grupo glaucoma apresentaram o gene *GSTMI* nulo associado ao gene *GSTTI* nulo mais frequente do que no grupo controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0007$ ), apresentando um OR de 6,7 vezes mais a chance de ocorrência da doença (Tabela IX).

**Tabela IX:** Distribuição da frequência polimorfismos *GSTMI* e *GSTTI* agrupados nos grupos glaucoma e o controle.

<i>GSTMI</i>	<i>GSTTI</i>	Glaucoma		Controle		OR (IC 95%)	P
		%	n	%	N		
Presente	Presente	23	23	47	25	1,0 (referência) <sup>1</sup>	-
Presente	Nulo	17	17	24	13	1,4 (0,5 a 3,5)	0,60
Nulo	Presente	29	29	19	10	3,1 (1,2 a 7,9)	0,02*
Nulo	Nulo	31	31	10	5	6,7 (2,7 a 20,3)	0,0007*
Total		100	100	100	53		

<sup>1</sup> - grupo de referência, indivíduos com genótipo de baixo risco (presença dos genes *GSTMI* e *GSTTI*).  
OR- Odds Ratio. IC- Intervalo de confiança. \*Valor estatisticamente significativo.

Foi comparado o gênero dos pacientes dos grupos glaucoma e controle com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* (Tabela X). Nos pacientes do sexo masculino do grupo glaucoma foi detectado 20% (20/100) de presença do gene *GSTM1* e 31% (31/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo. No grupo controle os pacientes do sexo masculino mostraram uma frequência de 26% (14/53) do gene *GSTM1* presente e 9% (05/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,02$ ; OR= 0,23 - IC= 0,07 – 0,74) [Tabela X].

**Tabela X:** Comparação da variável gênero com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* no grupo glaucoma e no grupo controle.

Gênero	Glaucoma				Controle				OR	IC 95%	P
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	N	%	n	%	n			
<b>Masculino</b>	20	20	31	31	26	14	9	5	0,23	0,07 – 0,74	0,02*
<b>Feminino</b>	20	20	29	29	45	24	19	10	0,29	0,11 – 0,73	0,01*
Total	40	40	60	60	71	38	28	15			

Gênero	GSTM1 presente				GSTM1 nulo				OR	IC 95%	P
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	N	%	n	%	n			
<b>Masculino</b>	28	28	23	23	26	14	9	5	0,43	0,14 – 1,39	0,25
<b>Feminino</b>	24	24	25	25	40	21	25	13	0,60	0,24 – 1,45	0,35
Total	52	52	48	48	66	35	34	18			

\*Valor estatisticamente significativo.

No grupo glaucoma as pacientes do sexo feminino foram detectadas 20% (20/100) de presença do gene *GSTM1* e 29% (29/100) das pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo e no grupo controle as pacientes do sexo feminino mostraram uma frequência de 45% (24/53) de presença do gene *GSTM1* e 19% (10/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,01$ ; OR= 0,29 - IC= 0,11 – 0,73) [Tabela X].

Quando foi analisado o gene *GSTT1* dos pacientes do grupo glaucoma do sexo masculino foram detectados 28% (28/100) com a presença do gene *GSTT1* e 23% (23/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo e no grupo controle os pacientes do sexo

masculino mostraram uma frequência de 26% (14/53) com a presença do gene *GSTT1* e 9% (5/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não sendo significativa ( $p=0,25$ ; OR= 0,43 - IC= 0,14 – 1,39) [Tabela X].

No grupo glaucoma as pacientes do sexo feminino foram detectadas 24% (24/100) de presença do gene *GSTT1* e 25% (25/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo e no grupo controle as pacientes do sexo feminino mostraram uma frequência de 40% (21/53) de presença do gene *GSTT1* e 25% (13/53) das pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não sendo significativa ( $p=0,35$ ; OR= 0,60 - IC= 0,24 – 1,45) [Tabela X].

Foi comparado a etnia dos pacientes dos grupos glaucoma e controle com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*. Nos pacientes do grupo glaucoma pertencentes à etnia branca 25% (25/100) indicaram a presença do alelo *GSTM1* e 41% (41/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo e os pacientes do grupo controle pertencentes à etnia branca 57% (30/53) mostraram a presença do alelo *GSTM1* e 21% (11/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, sendo significativa ( $p=0,0008$ ; OR= 0,22 - IC= 0,09 – 0,52) [Tabela XI].

**Tabela XI:** Comparação da variável etnia com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* nos grupo glaucoma e grupo controle.

Etnia	Glaucoma				Controle				OR	IC 95%	p
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	n	%	n	%	n			
Branco	25	25	41	41	57	30	21	11	0,22	0,09 – 0,52	0,0008*
Pardo/Preto	15	15	19	19	15	8	7	04	0,40	0,09 – 1,56	0,31
Total	40	40	60	60	72	38	28	15			
Etnia	GSTM1 presente				GSTM1 nulo				OR	IC 95%	p
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	n	%	n	%	n			
Branco	35	35	31	31	47	25	30	16	0,72	0,37 – 1,60	0,55
Pardo/Preto	17	17	17	17	15	08	8	04	0,50	0,12 – 1,97	0,50
Total	52	52	48	48	62	33	38	20			

\*Valor estatisticamente significativo.



No grupo glaucoma os pacientes pertencentes à etnia pardo/preto 15% (15/100) indicaram a presença do alelo *GSTMI* e 19% (19/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTMI* nulo e nos pacientes do grupo controle pertencentes à etnia pardo/preto 15% (8/53) indicaram a presença do alelo *GSTMI* e 7% (04/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTMI* nulo, não sendo esta diferença estatisticamente significante ( $p=0,31$ ; OR= 0,40 - IC= 0,09 – 1,56) [Tabela XI].

Quando foi analisado o gene *GSTTI* dos pacientes do grupo glaucoma pertencentes à etnia branca 35% (35/100) indicaram a presença do alelo *GSTTI* e 31% (31/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTTI* nulo e nos pacientes do grupo controle pertencentes à etnia branca 47% (25/53) indicaram a presença do alelo *GSTTI* e 30% (16/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTTI* nulo, não sendo significante ( $p=0,55$ , OR= 0,72 - IC= 0,37 – 1,60) [Tabela XI].

Nos pacientes do grupo glaucoma pertencentes à etnia pardo/preto 17% (17/100) indicaram a presença do gene *GSTTI* e 17% (17/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTTI* nulo. Nos pacientes do grupo controle pertencentes à etnia pardo/preto obtiveram 15% (08/53) de presença do gene *GSTTI* e 8 % (04/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTTI* nulo, não sendo esta diferença estatisticamente significante ( $p=0,50$ ; OR= 0,50 - IC= 0,12 – 1,97) [Tabela XI].

Foi comparado do hábito de fumar dos pacientes do grupo glaucoma e do controle e sua relação com os polimorfismos dos genes *GSTMI* e *GSTTI*. Os pacientes do grupo glaucoma com o hábito de fumar foram detectados 3% (03/100) de presença do gene *GSTMI* e 3% (03/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTMI* nulo e os pacientes do grupo controle com o hábito de fumar foram detectados 4% (02/53) de presença do gene *GSTMI* e 0% (0/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTMI* nulo, não sendo esta diferença estatisticamente significante ( $p=1,00$ ; OR= 0,37) [Tabela XII].

**Tabela XII:** Comparação da variável tabagismo com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* entre o grupo glaucoma e o grupo controle.

Fumo	Glaucoma				Controle				OR	IC 95%	p
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	n	%	n	%	n			
<b>SIM</b>	3	03	3	03	4	02	0	0	0,37	–	1,00
<b>NÃO</b>	37	37	57	57	68	36	28	15	0,27	0,13 – 0,56	0,0006*
Total	40	40	60	60	72	38	28	15			

Fumo	Glaucoma				Controle				OR	IC 95%	p
	GSTT1 presente		GSTT1 nulo		GSTT1 presente		GSTT1 nulo				
	%	n	%	n	%	n	%	n			
<b>SIM</b>	1	01	5	05	2	01	2	01	0,20	–	1,00
<b>NÃO</b>	51	51	43	43	64	34	32	17	0,59	0,29 – 1,20	0,20
Total	52	52	48	48	66	35	34	18			

\*Valor estatisticamente significante

No grupo glaucoma os pacientes que relataram não fumar foram detectados 37% (37/100) de presença do gene *GSTM1* e 57% (57/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo. No grupo controle os pacientes que relataram não fumar foram detectados 68% (36/53) de presença do gene *GSTM1* e 28% (15/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, sendo esta diferença estatisticamente significante ( $p=0,0006$ ;  $OR=0,27$  -  $IC=0,13 - 0,56$ ), ou seja, não possuir o hábito de fumar e apresentar o gene *GSTM1* presente mostrou uma menor chance de ocorrência do GPAA (Tabela XII).

Quando foi analisado o gene *GSTT1* dos pacientes do grupo glaucoma com o hábito de fumar foram detectados 1% (1/100) de presença do gene *GSTT1* e 5% (05/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo. No grupo controle os pacientes com o hábito de fumar foram detectados 2% (01/53) de presença do gene *GSTT1* e 2% (01/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não sendo estatisticamente significante ( $p=1,00$ ;  $OR=0,20$ ) [Tabela XII].

Nos pacientes do grupo glaucoma que relataram não fumar foram detectados 51% (51/100) da presença do gene *GSTT1* e 43% (43/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo e no grupo controle os pacientes que relataram não fumar foram detectados

64% (34/53) de presença do gene *GSTT1* e 32% (17/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,20$ ; OR= 0,59 - IC= 0,29 – 1,20) [Tabela XII].

Foi comparado o hábito de consumir bebida alcoólica dos pacientes do grupo glaucoma e do grupo controle e sua relação com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*. Os pacientes do grupo glaucoma com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 6% (06/100) com a presença do gene *GSTM1* e 14% (14/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo. No grupo controle os pacientes com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 25% (08/53) da presença do gene *GSTM1* e 9% (05/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, não sendo significativa ( $p=0,15$ ; OR= 0,26 - IC= 0,06 – 1,16) [Tabela XIII].

**Tabela XIII:** Comparação da variável etilismo com os polimorfismos dos genes *GSTM1* e *GSTT1* entre o grupo glaucoma e o grupo controle.

Álcool	Glaucoma				Controle				OR	IC 95%	p
	GSTM1 presente		GSTM1 nulo		GSTM1 presente		GSTM1 nulo				
	%	n	%	n	%	n	%	n			
<b>SIM</b>	6	06	14	14	25	8	9	05	0,26	0,06 – 1,16	0,15
<b>NÃO</b>	34	34	46	46	47	30	19	10	0,25	0,11 – 0,57	0,001*
Total	40	40	60	60	72	38	28	15			

Álcool	GSTT1 presente		GSTT1 nulo		GSTT1 presente		GSTT1 nulo		OR	IC 95%	p
	%	n	%	n	%	n	%	n			
	<b>SIM</b>	12	12	8	08	21	11	13			
<b>NÃO</b>	40	40	40	40	45	24	21	11	0,45	0,20 – 1,05	0,10
Total	52	52	48	48	66	35	34	18			

\*Valor estatisticamente significativo.

Nos pacientes do grupo glaucoma que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 34% (34/100) de presença do gene *GSTM1* e 46% (46/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo e no grupo controle os pacientes que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 47% (30/53) de presença do gene *GSTM1* e

19% (10/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTM1* nulo, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,001$ ; OR= 0,25 - IC= 0,11 – 0,57) [Tabela XIII].

Nos pacientes do grupo glaucoma com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 12% (12/100) de presença do gene *GSTT1* e 8% (08/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, sendo que no grupo controle os pacientes com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 21% (11/53) de presença do gene *GSTT1* e 13% (07/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,80$ ; OR= 0,20 - IC= 0,25 – 3,51) [Tabela XIII].

Nos pacientes do grupo glaucoma que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 40% (40/100) de presença do gene *GSTT1* e 40% (40/100) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, sendo que no grupo controle os pacientes que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 45% (24/53) de presença do gene *GSTT1* e 21% (11/53) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, não significativa ( $p=0,10$ ; OR= 0,45 - IC= 0,20 – 1,05) [Tabela XIII].

## 6. DISCUSSÃO

O glaucoma primário de ângulo aberto é um grande problema de saúde pública, preocupando médicos, autoridades e pacientes na busca por caminhos para combater a cegueira que pode causar. O GPAA é assintomático e quase nunca é objeto de campanhas preventivas. É diagnosticado na maioria das vezes por acaso em consultas oftalmológicas marcadas para verificação de alguma outra disfunção ocular (Mello e Junior, 2005).

A incidência do GPAA está aumentando conforme o 3º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto que ocorreu em 2009. Estimou-se que em 2010 haveria cerca de 60,5 milhões de glaucomatosos em todo o mundo dos quais 4,5 milhões são portadores do glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) e 3,9 milhões são portadores de glaucoma primário de ângulo fechado (GPAF) [Quigley e Broman, 2006].

O GPAA é mais comum após os 40 anos afetando um em cada 100 indivíduos (Dias e Homero, 2000). Considerando que as idades médias da população brasileira vêm aumentando, supõe-se que esses números sejam ainda mais preocupantes no futuro (Mello e Junior, 2005). A idade dos pacientes que apresentaram GPAA no nosso estudo foi maior quando comparado ao controle sendo estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ), corroborando com o descrito na literatura mundial (Juronen et al., 2000; Yildirim et al., 2005; Ünal et al., 2007).

Com o advento das técnicas de biologia molecular e o sequenciamento do genoma humano, estudos de genética em oftalmologia permitiram a identificação de locos e genes associados com o glaucoma (Wiggs, 2001; Wirtz e Samples, 2003; Pache, 2007). A correlação entre o genótipo/fenótipo permitiu observar manifestações clínicas e respostas terapêuticas distintas dentro das manifestações dos tipos de glaucoma. As alterações genéticas encontradas e o entendimento destas mutações geram o avanço no entendimento

das bases genéticas na oftalmologia, o que em particular, auxiliará no diagnóstico precoce, na fisiopatologia da lesão glaucomatosa e mesmo no tratamento por meio de terapia gênica ou convencional, reduzindo o risco de cegueira no futuro (Vasconcellos, 2001; Samples, 2003; Cella, 2005).

O olho precisa de um eficiente sistema de redução e enzimas de desintoxicação. O epitélio ocular expressa genes que codificam as enzimas glutathione S-transferases (GSTs) e outras envolvidas no ciclo da glutathione, como a glutathione peroxidase. Estudos epidemiológicos sugerem que a suscetibilidade a patologias oculares podem estar correlacionadas ao sistema GSTs (Juronen et al., 2000; Yildirim et al., 2003).

A associação do polimorfismo das GSTs (enzimas de detoxificação) com a ocorrência do glaucoma vem sendo assunto de diferentes estudos (Juronen et al., 2000; Yildirim et al., 2005; Ünal et al., 2007; Rocha et al., 2011).

Nossos estudos detectaram que a frequência do genótipo *GSTM1* nulo no grupo glaucoma foi 2,12 vezes maior quando comparado ao grupo controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0004$ ), também a frequência do genótipo *GSTT1* nulo no grupo glaucoma foi 1,4 vezes maior quando comparado ao grupo controle, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0,13$ ).

Foi verificado também a associação dos genótipos *GSTM1* nulo/*GSTT1* presente ao risco de glaucoma para 3,1 vezes mais a chance de ocorrência da doença, sugerindo que indivíduos que apresentam os genótipos *GSTM1* nulo/*GSTT1* presente pode ser considerado como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do GPAA. Já para os genótipos *GSTM1/GSTT1* nulos foi verificado o risco de aproximadamente 7 vezes mais a chance de ocorrência da doença ( $p=0,0004$ ; OR: 6,7; IC 95%: 2,7 – 20,3), sugerindo que indivíduos que apresentam os genótipos *GSTM1/GSTT1* nulos podem ser considerados como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do GPAA.

A associação do genótipo *GSTMI* nulo com GPAA foi observada pela primeira vez por Izzotti et al., (2003). Eles estudaram a população italiana e relataram uma maior frequência de *GSTMI* nulo em pacientes com glaucoma quando comparados a pacientes saudáveis. Também observaram um aumento de três vezes nos níveis de 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), que é um indicador de dano oxidativo ao DNA no tecido da malha trabecular de pacientes com GPAA e que apresentaram o genótipo *GSTMI* nulo. O genótipo *GSTTI* não foi estatisticamente significativo quando foram comparados aos grupos assim como nosso resultado e não teve efeito sobre os níveis de 8-OH-dG. O resultado encontrado é considerado como uma nova perspectiva no GPAA para a compreensão da fisiopatologia e na elucidação do papel do estresse oxidativo relacionado ao glaucoma.

Também estudos na população turca realizados por Yildirim et al., (2005), estão de acordo com nossos resultados, onde foram observados maior frequência do genótipo *GSTMI* nulo entre os pacientes com glaucoma que foi estatisticamente significativo em comparação aos controles (54,9 vs 40,9%; OR: 1,64; IC 95%: 1,10 – 2,59). Assim como a frequência do *GSTTI* em ambos os grupos não foi significativa.

Estudos na população brasileira realizados por Rocha et al., (2011), confirmam nossos achados. Estes autores indicaram que polimorfismo *GSTMI* nulo foi significativamente mais frequente no GPAA do que no grupo controle ( $p=0,018$ ; OR: 2,1; IC 95%: 1,13 – 3,9). E que o genótipo *GSTMI* nulo/*GSTTI* presente foi associado a maiores níveis de pressão intra-ocular de ambos os olhos e com defeito mais grave no nervo óptico do olho direito.

Segundo Abu-Amero et al., (2008), relataram uma possível associação entre os genótipos *GSTMI/GSTTI* nulos e o GPAA na população da Arábia Saudita, sugerindo que a diminuição da função da GST pode interferir no metabolismo oxidativo e acentuar

efeitos diretos ou indiretos levando a danos no nervo óptico causado pelo estresse oxidativo. E concluem que o polimorfismo da GSTs possa ser um fator de risco para o desenvolvimento de GPAA.

Juronen et al., (2000), ao analisar a população da Estônia, relataram que o genótipo *GSTMI* presente foi associado ao maior risco de desenvolvimento do GPAA quando comparado ao grupo controle. Ünal et al., (2007) analisando a população turca assim como Rasool et al., (2010) analisando a população egípcia também encontraram maior frequência do genótipo *GSTMI* presente em pacientes com GPAA em comparação ao grupo controle, diferente do observado no nosso trabalho.

Evidências adicionais para o envolvimento do genótipo *GSTMI* presente no glaucoma vem de estudos sobre auto-imunidade. Yang et al., (2001), mostraram que o antígeno GSTs foi encontrado em 52% dos casos com glaucoma e em 20% dos controles ( $p=0,05$ ). Os pacientes apresentavam títulos mais elevados de anticorpos anti-GST comparados aos controles. Além disso, o antígeno relacionado à retina pertencia ao GST de classe-mu ( $\mu$ ). A hipótese de que pessoas que expressam *GSTMI* possuem risco aumentado de desenvolver auto-anticorpos contra essa proteína relacionada ao aumento do risco de desenvolver glaucoma.

Acredita-se que vários fatores podem explicar a associação entre o genótipo *GSTMI* presente e GPAA. Embora as GSTs catalisem reações de desintoxicação, também participam de reações que resultam em produtos tóxicos que podem causar mudanças estruturais nas proteínas presentes na malha trabecular e no humor aquoso. Isso pode levar a agregação ou modificação de proteínas e promover o desenvolvimento do GPAA. Além disso, indivíduos com o genótipo *GSTMI* nulo não expressam a classe-mu ( $\mu$ ) que os indivíduos com o genótipo *GSTMI* presente expressam afetando assim a detoxificação do organismo.



Contudo, Jansson et al., (2003), na população sueca não conseguiram detectar qualquer associação significativa entre GPAA e polimorfismos das GSTs. Nosso estudo foi um dos primeiros a descrever na população brasileira, e encontrou uma associação significativa entre o genótipo *GSTM1* nulo e o GPAA. O genótipo *GSTT1* nulo foi também relatado em alguns estudos associado com uma maior tendência para algumas doenças incluindo cânceres e lesões pré-cancerosas (Nakajima et al., 1995; König-Greger et al., 2004; Boccia et al., 2006; Funke et al., 2010).

Quando analisamos o gênero, a frequência do genótipo *GSTM1* presente foi estatisticamente significativa para o dois gêneros, ou seja, não houve relação entre o gênero (masculino x feminino) com a frequência do polimorfismo. Não encontramos estudos que relatem qualquer tipo de relação entre o gênero e o desenvolvimento do GPAA.

Quando analisamos a variável etnia, verificamos a significância para indivíduos pertencentes à etnia branca associado ao genótipo *GSTM1* presente ( $p=0,0008$ ; OR: 0,22; IC 95%: 0,09 – 0,52), conferindo com isto uma menor chance de ocorrência do GPAA para os indivíduos com a etnia branca, corroborando com a literatura mundial, onde o GPAA é mais frequente na etnia negra.

Distelhorst e Hughes (2003) demonstraram que o aumento de risco de GPAA incluem pessoas negras com mais de 40 anos e brancos acima de 65 anos e a prevalência de glaucoma é 3 vezes mais alta nos indivíduos de raça negra. O GPAA está presente em todas as etnias sendo mais prevalente nos asiáticos e mais lesivo em africanos ou afro-descendentes (Racette et al., 2003).

A população do nosso estudo está localizada em uma área composta por diversidade genética estabelecida a mais de 500 anos, consistindo de imigrantes europeus – principalmente portugueses; africanos e nativos americanos Karajás (Pena, 2005).

A análise da variável hábito de fumar apresentou-se significativa para os indivíduos que relataram não fumar associado ao genótipo *GSTM1* presente, indicando uma menor chance de ocorrência do GPAA, no nosso estudo.

Diferente dos nossos resultados Juronen et al., (2000) relataram que o risco entre os indivíduos com genótipo *GSTM1* presente de desenvolver o GPAA foi ainda maior nos tabagistas: 62,7% de fumantes foram *GSTM1* presente no grupo glaucoma, enquanto apenas 33,3% dos fumantes tinham fenótipo *GSTM1* presente nos controles ( $p=0,012$ ; OR: 3,36; IC 95%: 1,49 – 7,56).

A enzima *GSTM1* atua na detoxificação de certos epóxidos dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) encontrados na fumaça do cigarro e em outros produtos de combustão. O HAP presentes no cigarro, incluindo o carcinógenos benzo(a)pireno, requerem ativação metabólica pelas enzimas da fase I (citocromo P450 e suas formas ativadas) que produzem um intermediário que se constitui no substrato de detoxificação para as enzimas *GSTM1* de fase II (Losi-Guembarovski et al., 2002).

Conforme Losi-Guembarovski et al., (2002), o cigarro não está relacionado com o aumento da PIO, mas a nicotina é um vasoconstritor e demonstraram que o fumo reduz o fluxo sanguíneo para a parte posterior do olho, com isso qualquer evento que impeça a circulação é prejudicial ao glaucoma.

A análise da variável hábito de consumir bebida alcoólica apresentou-se significativa para indivíduos que relataram não consumir bebida alcoólica associada ao genótipo *GSTM1* presente, indicando menor chance de ocorrência do GPAA, no nosso estudo.

Kang et al., (2007) em pesquisa realizada na Escola de Medicina de Harvard mostraram que o álcool pode reduzir a PIO e poderia realmente proteger o olho de uma perda de visão. O consumo baixo a moderado de álcool não influencia o risco GPAA,

porém advertiram que o consumo moderado de álcool não deve fazer parte de uma dieta diária porque os benefícios não superam os riscos.

Uma das contribuições da genética para o glaucoma é compreender melhor os mecanismos por meio dos quais esta doença se desenvolve. Com isso, propõem-se melhores tratamentos e métodos diagnósticos. Outra contribuição da genética consiste na possibilidade de se realizar um futuro aconselhamento genético, pois, quanto mais se entende a genética do glaucoma, mais se chega a indivíduos com maior ou menor risco. Além disso, a genética permite indicar um acompanhamento personalizado de todos os pacientes com glaucoma.

Gostaríamos de observar aqui, que a análise de outros polimorfismos de enzima é necessária para elucidar ainda mais a fisiopatologia da doença. Talvez no futuro próximo possamos executar diagnósticos com base genética nos estágios iniciais da doença, evitando assim a cegueira associada ao GPAA e atuando com a medicina preventiva.

## 7. CONCLUSÃO

- Foi verificada uma diferença dos grupos (glaucoma x controle) em relação à idade dos pacientes;
- A frequência do gene *GSTMI* nulo no grupo glaucoma foi duas vezes maior quando comparado ao grupo controle;
- A frequência do genótipo *GSTTI* nulo no grupo glaucoma foi igual ao grupo controle;
- A frequência do genótipo *GSTMI* nulo/*GSTTI* presente aumenta em 3,1 vezes mais sua associação dos pacientes com GPAA;
- A frequência dos genótipos *GSTMI*/*GSTTI* nulos aumenta em 6,7 vezes mais sua associação dos pacientes com GPAA;
- Quando analisamos a variável gênero com o polimorfismo dos genes *GSTMI* e *GSTTI* não foi verificada relação nos grupos estudados;
- Quando analisamos a variável etnia, verificamos a significância para indivíduos pertencentes à etnia branca associado ao genótipo *GSTMI* presente, conferindo com isto uma menor chance de ocorrência do GPAA para os indivíduos com a etnia branca;
- Quando analisamos a variável tabagismo apresentou-se significativa para os indivíduos que relataram não fumar associado ao genótipo *GSTMI* presente, indicando uma menor chance de ocorrência do GPAA, no nosso estudo;
- Quando analisamos a variável etilismo apresentou-se significativa para indivíduos que relataram não consumir bebida alcoólica associada ao genótipo *GSTMI* presente, indicando menor chance de ocorrência do GPAA.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdel-Rahman, SZ, El-Zein RA, Anwar NA, et al. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Cancer Letters*. 1996; 107(2): 229-233.
2. Abu-Amero KK, Morales J, Mohamed GH, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Molecular Vision*. 2008;14:425-430.
3. Adam MF, Belmouden A, Binisti P, et al. Recurrent mutations in a single exon encoding the evolutionarily conserved olfactomedin-homology domain of TIGR in familial open-angle glaucoma. *Human Molecular Genetics*. 1997;6(12):2091-2097.
4. Alexander JP, Samples JR, Acott TS, et al. Expression of matrix metalloproteinases and inhibitor by human trabecular meshwork. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*. 1991;32(1):172-180.
5. Alward WL, Johnson AT, Nishimura DY, et al. Molecular genetics of glaucoma: current status. *Journal of Glaucoma*. 1996;5(4):276-284.
6. Alward, WL, Kwon YH, Kawase K, et al. Evaluation of optineurin sequence variations in 1,048 patients with open-angle glaucoma. *American Journal Ophthalmology*. 2003;136(5):904-910.
7. Arruda JT, Silva DM, Silva CC, et al. Homologous recombination between HERVs causes duplications in the AZFa region of men accidentally exposed to cesium-137 in Goiânia. *Genetics Molecular Research*. 2008; 14(4):1063-1069.
8. Arruda VR, Grignolli CE, Gonçalves MS, et al. Prevalence of homozygosity for the deleted alleles of glutathione S-transferase mu (GSTM1) and theta (GSTT1) among distinct ethnic groups from Brazil: relevance to environmental carcinogenesis? *Clinical Genetics*. 1998;54(3):210-214.

9. Aung T, Ebenezer ND, Child AH, et al. Prevalence of optineurin sequence variants in adult primary open angle glaucoma: implications for diagnostic testing. *Journal Medical Genetics*. 2003;40(8):e101.
10. Ayres M, Júnior M, Santos A, et al. *BioEstat-Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas*. 2007. 5ª Edição. Belém-Pará-Brasil.
11. Bailey LR, Roodi N, Verrier CS, et al. Breast cancer and *CYP1A1*, *GSTM1*, and *GSTT1* polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. *Cancer Research*. 1998;58:65-70.
12. Bathija R, Gupta N, Zangwill L, et al. Changing definition of glaucoma. *Journal of Glaucoma*. 1998;7:165–177.
13. Betinjane AJ, Paranhos JA, Omi CA, et al. Conceito, fatores de risco e diagnóstico. In: Mello PAA, Mandia Júnior C, organizadores. In: 2º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto. São Paulo: Sociedade Brasileira de Glaucoma; 2005:4-44.
14. BioEstat. Software de bioestatística versão 5. Disponível em <http://www.mamiraua.org.br/download>. Acesso em 18/09/2011.
15. Board PG, Baker RT, Chelvanayagam G, et al. Zeta, a novel class of glutathione transferases in a range of species from plants to humans. *Biochemical Journal*. 1997;328(3):929-935.
16. Boccia S, Cadoni G, Sayed-Tabatabaei FA, Volante M, Arzani D, De Lauretis A, et al. CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 exons 3 and 4, and NAT2 polymorphisms, smoking, consumption of alcohol and fruit and vegetables and risk of head and neck cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2008;134:93-100.
17. Buono LM, Foroozan R, Sergott RC, et al. Is normal tension glaucoma actually an unrecognized hereditary optic neuropathy? New evidence from genetic analysis. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2002;13(6):362-370.

18. Cabral IR, Rossit AR e Hamel AR. Polimorfismos em genes de biometabolismo e prevalência do alelo CYP2E1\*C2 em deficientes de G6PD assintomáticos: análises em uma população paraense. *Genetics and Molecular Biology*. 1999;22:236-237.
19. Cella WP. Rastreamento de mutações nos genes PITX<sub>2</sub>, FOXC1, GJA1 em pacientes com Síndrome de Axefeld-Rieger associada ao Glaucoma (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp, Campinas. 2005.
20. Costa NB. Análise do polimorfismo CYP1A1M1 em pacientes com Glaucoma Primário de Ângulo Aberto (Mestrado). Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC-Goiás, Goiânia – Brasil, 2012.
21. Craig JE, Baird PN, Healey DL, et al. Evidence for genetic heterogeneity within eight glaucoma families, with the GLC1A Gln368STOP mutation being an important phenotypic modifier. *Ophthalmology*. 2001;108(9):1607-1620.
22. Da Silva-Júnior RL. Implicações dos Polimorfismos Genéticos de CYP1A1, GSTM1 e GSTT1 em Carcinoma Espinocelular da Laringe (Mestrado). Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia-Brasil, 2008.
23. De Voogd S, Wolfs RC, Uitterlinden AG, et al. Estrogen receptors alpha and beta and the risk of open-angle glaucoma: the Rotterdam Study. *Archives of Ophthalmology*. 2008;126(1):110-114.
24. Dias, JFP e Homero GA. Glaucoma. 2ª edição. Rio de Janeiro: Cultura Médica. 2000;15:148.
25. Distelhorst JS e Hughes GM. Open-angle glaucoma. *American Academy of Family Physicians* 2003; 67(9):1937-1944.
26. Fingert JH, Stone EM, Sheffield VC, et al. Myocilin glaucoma. *Survey of Ophthalmology*. 2002;47(6):547-561.
27. Fingert JH, Ying L, Swiderski RE, et al. Characterization and comparison of the human and mouse GLC1A glaucoma genes. *Genome Research*. 1998;8(4):377-384.

28. Frare AB. Investigação dos polimorfismos GSTM1 e GSTT1 em mulheres com endometriose (Mestrado). Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC-Goiás, Goiânia-Brasil, 2011.
29. Funke S, Timofeeva M, Risch A, et al., Genetic polymorphisms in GST genes and survival of colorectal cancer patients treated with chemotherapy. *Pharmacogenomics*. 2010;11(1):33-41.
30. Ghanem CC. Levantamento de casos de Glaucoma em Joinville - Santa Catarina, 1984. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia*. 1989;52(2):40-43.
31. Gjessing HK e Lie RT. Biometrical modelling in genetics: are complex traits too complex? *Statistical Methods in Medical Research*. 2008;17(1):75-96.
32. Grégio D'Arce LP e Cólus IM. Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*. 2000;20(3):161-70.
33. Hasler JA, Beaune P, Murray M, et al. Human cytochromes P450. *Molecular Aspects of Medicine*. 1999;20:1-137.
34. Hattenhauer MG, Johnson DH, Herman DC et al. The probability of blindness from openangle glaucoma. *Ophthalmology*. 1998;105(11):2099-2104.
35. Hauser MA, Sena DF, Walter J, et al. Distribution of optineurin sequence variations in an ethnically diverse population of low-tension glaucoma patients from the United States. *Journal of Glaucoma*. 2006;15(5):358-363.
36. Hayes JD e Strange RC. Potential contribution of the glutathione S-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. *Free Radical Research*. 1995;22(3):193-207.
37. Hogewind BF, Gaplovska-Kysela K, Theelen T, et al. Identification and functional characterization of a novel MYOC mutation in two primary open angle glaucoma families from the Netherlands. *Molecular Vision*. 2007;13:1793-1801.



38. Izzotti A, Bagnis A e Sacca SC. The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutation Research*. 2006;612(2):105-114.
39. Izzotti A, Sacca SC, Cartiglia C, et al. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients. *American Journal of Medicine*. 2003;114(8):638-646.
40. Jansson M, Rada A, Tomic L, Larsson LI, Wadelius C. Analysis of the Glutathione S-transferase M1 gene using pyrosequencing and multiplex PCR—no evidence of association to glaucoma. *Experimental Eye Research*. 2003;77:239-43.
41. Juronen E, Tasa G, Veromann S, et al. Polymorphic glutathione S-transferase M1 is a risk factor of primary open-angle glaucoma among Estonians. *Experimental Eye Research*. 2000;71(5):447–452.
42. Kang JH, Willett WC, Rosner BA, et al. Prospective Study of Alcohol Consumption and the Risk of Primary Open-Angle Glaucoma. 2007;14(3):141-147.
43. König-Greger D, Riechelmann H, Wittich U, et al. Genotype and phenotype of glutathione S-transferase in patients with head and neck carcinoma. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2004; 130(6):718-725.
44. Kramer PL, Samples JR, Monemi S, et al. The role of the WDR36 gene on chromosome 5q22.1 in a large family with primary open-angle glaucoma mapped to this region. *Archives of Ophthalmology*. 2006;124(9):1328-1331.
45. Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, et al. Primary Open-Angle Glaucoma. *The New England Journal of Medicine*. 2009; 360:1113-1124.
46. Lang M e Pelkonen O. Metabolism of xenobiotics and chemical carcinogenesis. *International Agency For Research On Cancer – IARC Scientific Publications*. 1999; 148:13-22.
47. Lauretti CR e Filho AL. Glaucomas. *Simpósio: Oftalmologia para o Clínico. Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto*. 1997; 30:56-65.
48. Leske MC, Ederer F e Podgor M. Estimating incidence from age-specific prevalence in glaucoma. *American Journal of Epidemiology*. 1981; 113(5):606-613.

49. Lewis SJ, Cherry NM, Niven RM et al. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk. *Cancer Letters*. 2002; 180(2):165-171.
50. Libby RT, Gould DB, Anderson MG, et al. Complex genetics of glaucoma susceptibility. *Annual Review Genomics and Human Genetics*. 2005;6:15-44.
51. Lin HJ, Chen WC, Tsai FJ, et al. Distributions of p53 codon 72 polymorphism in primary open angle glaucoma. *British Journal Ophthalmology* .2002;86(7):767-770.
52. Lopez-Martinez F, Lopez-Garrido MP, Campos-Mollo E, et al. Role of MYOC and OPTN sequence variations in Spanish patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular Vision*. 2007;13:862-872.
53. Losi-Guembarovski R, Grégio D'Arce LP e Syllos IMC. Glutathione S-transferase Mu (GSTM1) null genotype in relation to gender, age and smoking status in a healthy Brazilian population. *Genetics and Molecular Biology*. 2002;25(4):357-360.
54. Mackay EO, Kallberg ME e Gelatt KN. Aqueous humor myocilin protein levels in normal, genetic carriers, and glaucoma beagles. *Veterinary Ophthalmology*. 2008;11(3):177-185.
55. Mannervik B e Danielson UH. Glutathione transferases-structure and catalytic activity. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 1988;23(3):283-337.
56. Mello PAA e Junior CM. In: 2º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto. Sociedade Brasileira de Glaucoma, São Paulo, 2005:40-44.
57. Millikan R, Duell EJ, Tse C, et al. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiology Biomarkers e Prevention*. 2000;9(11):1233–1240.
58. Monemi S, Spaeth G, Popinchalk S, et al. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Human Molecular Genetics*. 2005;14(6):725-733.

59. Moreno MC, Campanelli J, Sande P, et al. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. *Free Radical Biology Medicine*. 2004; 37(6):803-812.
60. Morissette J, Cote G, Anctil J, et al. A common gene for juvenile and adult-onset primary open-angle glaucomas confined on chromosome 1q. *The American Journal of Human Genetics*. 1995;56(6):1431-1442.
61. Nakajima T, Elovaara E, Anttila S, et al. Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis*. 1995;16(4):707-711.
62. Nebert WN. Polymorphisms in drug metabolizing enzymes; what is their clinical relevance and why do they exist? *The American Journal of Human Genetics*. 1997; 60(2):265-271.
63. Netland PA. *Glaucoma Medical Therapy: Principles and Management* (Academy American of Ophthalmology Monograph Series). Oxford University Press, USA. 2007:1-312.
64. Nguyen TD, Chen P, Huang WD, et al. Gene structure and properties of TIGR, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(11):6341-6350.
65. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>. Acesso em 05/05/2011.
66. Pache M. Primary open-angle glaucoma and systemic diseases. *Ophthalmologie*. 2007;104(5):431-441; quiz 442-443.
67. Paranhos-Júnior A, Omi CA, Júnior JAP, et al. 3º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de Ângulo Aberto. *Sociedade Brasileira do Glaucoma*. 2009; 1-100.
68. Park BC, Tibudan M, Samaraweera M, et al. Interaction between two glaucoma genes, optineurin and myocilin. *Genes Cells*. 2007;12(8): 969-979.

69. Passos MMB, Oliveira NVBV, Barros RCA, et al. Substâncias fotossensibilizantes. Informativo do CRIM – Centro Regional de informações de medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRJ. 2003;5(1):1-5.
70. Pearson WR, Berger R, Vorachek WR, et al. Identification of class-um glutathione transferases genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. The American Journal of Human Genetics. 1993;53(1):220-233.
71. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. The Biochemical Journal. 1994; 300(1):271–276.
72. Pena, SDJ. Reasons for banishing the concept of race from Brazilian medicine. História, Ciências, Saúde – Manguinhos. 2005;12(1):321-346.
73. Pova CA, Malta, RFS, Rezende MM, et al. Correlation between genotype and phenotype in primary open angle glaucoma of Brazilian families with mutations in exon 3 of the TIGR/MYOC gene. Arquivos Brasileiro de Oftalmologia. 2006;69(3):289-297.
74. Puga A, Menon AG, McKinnon RA, et al. Genetic polymorphisms in human drug-metabolizing enzymes: potential uses of reverse genetics to identify genes of toxicological relevance. Critical Reviews in Toxicology. 1997; 27(2):199-222.
75. Quigley HA e Broman AT. The number of people with glaucoma world wide in 2010 and 2020. British Journal Ophthalmology. 2006; 90(3):262-267.
76. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. British Journal Ophthalmology. 1996; 80(5): 389-393.
77. Racette L, Wilson MR, Zangwill LM, et al. Primary open-angle glaucoma in blacks: a review. Survey Ophthalmology 2003; 48(3):295-313.
78. Rasool HAA, Nowier SR, Gheith M, et al. The Risk of Primary Open Angle Glaucoma and Glutathione S Transferase M1 and T1 Polymorphism among Egyptians. Journal of American Science. 2010; 6(12):375-385.

79. Raymond V. Molecular genetics of the glaucomas: mapping of the first five “GLC” loci. *American Journal Human Genetics*. 1997; 60(2):272-277.
80. Ressiniotis T, Griffiths PG, Keers SM et al. A polymorphism at codon 31 of gene p21 is not associated with in primary open angle glaucoma in Caucasians. *BioMed Central Ophthalmology*. 2005;5(5):1-4.
81. Rezaie T, Child A, Hitchings R, et al. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science*.2002;295(5557):1077-1079.
82. Rocha VA, Talbot T, Silva TM, et al. Is the GSTM1 null polymorphism a risk factor in Primary Open Angle Glaucoma? *Molecular Vision*. 2011;17:1679-1686.
83. Roodi N, Dupont W, Moore J, et al. Association of Homozygous Wild-Type Glutathione S-Transferase M1 Genotype with Increased Breast Cancer Risk. *Cancer Research*. 2004;64:1233-1236.
84. Rossi AM, Barale R, et al. Genetic polymorphisms influence variability in benzene metabolism in humans. *Pharmacogenetics* 1999;9:445-451.
85. Sakata K, Scapucin L, Carvalho ACA, et al. Projeto glaucoma – resultados parciais 2000 na região de Piraquara – PR. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2002;65(3):333-337.
86. Sakata, K. Prevalência e características clínicas do glaucoma em uma população da região sul do Brasil – Projeto Glaucoma (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Paraná, 2006.
87. Salama AS, Sierra-Torres CH, Hamada FA, et al. Variant metabolizing gene alleles determine the genotoxicity of benzo[a]pyrene. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2001;37(1):17-26.
88. Samples JR. *Ophthalmic Genetics: diagnosis and therapy*. *Ophthalmology*. 2003;16(4):896-1549.

89. Schafer FQ e Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology e Medicine*. 2001;30(11):1191-1212.
90. Seidegard J, Vorachek WR, Pearson WR, et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1988;85(19):7293-7297.
91. Sheehan D, Meade G, Foley VM, et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *The Biochemical Journal*. 2001;15(360):1-16.
92. Sheffield VC, Stone EM, Alward WL et al. Genetic linkage of familiar open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nature Genetics*. 1993; 4:47-50.
93. Shepard AR, Jacobson N, Fingert JH, et al. Delayed secondary glucocorticoid responsiveness of MYOC in human trabecular meshwork cells. *Investigative Ophthalmology Visual Science*. 2001;42(13):3173-3181.
94. Silva RE, Arruda JT, Rodrigues FW, et al. Primary open angle glaucoma was not found to be associated with p53 codon 72 polymorphism in a Brazilian cohort. *Genetics Molecular Research*. 2009;8(1):268-272.
95. Spaeth GL, Lopes JF, Junk AK, et al. Systems for staging the amount of optic nerve damage in glaucoma: a critical review and new material. *Survey of Ophthalmology*. 2006;51(4):293-315.
96. Sprenger R, Schlagenhauer R, Kerb RB, et al. Characterization of the glutathione S-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. *Pharmacogenetics*. 2000;10(6):557-565.
97. Stamper LR, Lieberman MF e Drake, MV. *Diagnosis and therapy of the glaucomas*. Editora Mosby. 1999;7:1-191.

98. Stillitano IG, Tenório A, Cardoso G, et al. Custo do tratamento de drogas antiglaucomatosas: latanoprost, travoprost, bimatoprost e unoprostona isopropílica. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2003;66(6):859-864.
99. Stone EM, Fingert JH, Alward WLM, et al. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science*. 1997;275(5300):668-670.
100. Strange RC, Lear JT e Fryer AA. Glutathione S-transferase polymorphisms: influence on susceptibility to cancer. *Chemico-Biological Interactions- Elsevier*. 1998; 111(97):351-364.
101. Strange RC, Spiteri MA, Fryer AA et al. Glutathione S-transferase family of enzymes. *Mutation Research*. 2001; 482(1-2): 21-26.
102. Suden SL, Alward WL, Nichols BE, et al. Fine mapping of the autosomal dominant juvenile open angle glaucoma (GLC1A) region and evaluation of candidate genes. *Genome Research*. 1996; 6(9):862-869.
103. Tamm ER e Fuchshofer R. What increases outflow resistance in primary open-angle glaucoma? *Survey of Ophthalmology*. 2007; 52(2):101-104.
104. Tavares IM e Mello PADA. Glaucoma de pressão normal. *Arquivos Brasileiro de Oftalmologia*. 2005; 68(4):565-575.
105. Thylefors B e Negrel D. The global impact of glaucoma. *Bulletin of the World Health Organization*. 1994; 72(3):323-326.
106. Tink JT, Barnstable JC, Shields MB et al. Mechanisms of the Glaucomas: Disease Processes and Therapeutic Modalities. *Optometry e Vision Science*. 2008; 86(8):e1019.
107. To-Figueras J, Gene M, Gómez-Catalán J, et al. Lung cancer susceptibility in relation to combined polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase. *Cancer Letters*. 2001; 173(2):155-162.

108. Tomarev SI e Malyukova I. Gene expression profile of the human trabecular meshwork: NEIBank sequence tag analysis. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*. 2003; 44(6):2588-2596.
109. Ünal M, Güven M, Devranoglu K, et al. Glutathione transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *British Journal of Ophthalmology*. 2007; 91(4):527–530.
110. Vasconcellos JPC. Avaliação da frequência e do tipo de mutações no gene TIGR/MYOC em uma população brasileira com GPAA do tipo juvenil (Doutorado). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas. 2001.
111. Werner EB. Normal-tension glaucoma. In: Ritch R, Shields M, Krupin T (editores) Ed. Mosby, St Louis, 1996;2:769-797.
112. Wiggs JL, Allingham RR, Hossain A, et al. Genome-wide scan for adult onset primary open angle glaucoma. *Human Molecular Genetics*. 2000;9(7):1109-1117.
113. Wiggs JL. Genetic etiologies of glaucoma. *Archives of Ophthalmology*. 2007;125(1):30-37.
114. Wiggs JL. The Human Genome Project and Eye Disease. *Archives of Ophthalmology*. 2001;119(11):1710-1711.
115. Wilkinson J e Clapper ML. Detoxification enzymes and chemoprevention. *Experimental Biology and Medicine*. 1997;216:192-200.
116. Wirtz, MK e Samples JR. The genetic loci of open-angle glaucoma. *Ophthalmology Clinics of North America*. 2003; 16(4):505-514.
117. Xu S, Wang Y, Roe B, et al. Characterization of the human class Mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *Journal Biological Chemistry*. 1998; 273(6):3517-3527.



118. Yang J, Tezel G, Patil RV, et al. Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma. *Investigative Ophthalmology Visual Science*. 2001;42(6):1273–1276.
119. Yao HY, Cheng CY, Fan BJ, et al. Polymorphism of myocilin and optineurin in primary open angle glaucoma patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2006;86(8):554-559.
120. Yildirim O, Ates NA, Tamer L, et al. May glutathione S-Transferase M1 positive genotype afford protection against primary open-angle glaucoma? *Graefe's Archive Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2005;243(4):327-333.

**QUESTIONÁRIO**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Ficha de inscrição (PCO): \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

Etnia: ( ) Branca ( ) Negra ( ) Parda Outras: \_\_\_\_\_

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

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: \_\_\_\_\_

**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 Pontifícia Universidade Católica de Goiás pelo telefone 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 Pontifícia 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, ressalvando 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: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

 <b>Andamento do projeto - CAAE -0076.0.168.00007</b> 																									
<b>Título do Projeto de Pesquisa</b> POLIMORFISMO DO GENE P53 EM PACIENTES COM GLAUCOMA EM UM CENTRO DE REFERENCIA EM OFTALMOLOGIA NA CIDADE DE GOIANIA																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Situação</th> <th>Data Inicial no CEP</th> <th>Data Final no CEP</th> <th>Data Inicial na CONEP</th> <th>Data Final na CONEP</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Aprovado no CEP</td> <td>18/10/2007 14:25:34</td> <td>13/12/2007 13:46:08</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>						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												
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																							
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Descrição</th> <th>Data</th> <th>Documento</th> <th>Nº do Doc</th> <th>Origem</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet</td> <td>08/10/2007 11:37:41</td> <td>Folha de Rosto</td> <td>FR160294</td> <td>Pesquisador</td> </tr> <tr> <td>2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)</td> <td>18/10/2007 14:25:35</td> <td>Folha de Rosto</td> <td>0076.0.168.000-07</td> <td>CEP</td> </tr> <tr> <td>3 - Protocolo Aprovado no CEP</td> <td>13/12/2007 13:46:08</td> <td>Folha de Rosto</td> <td>717</td> <td>CEP</td> </tr> </tbody> </table>						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
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																					