



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE *GSTT1* EM
AMOSTRAS DE PTERÍGIO DE PACIENTES DE GOIÂNIA
- GOIÁS - BRASIL**

GUILHERME MIRANDA DOS REIS

Goiânia – GO

2014



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO GENE *GSTT1* EM
AMOSTRAS DE PTERÍGIO DE PACIENTES DE GOIÂNIA
- GOIÁS - BRASIL**

GUILHERME MIRANDA DOS REIS

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

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. KÁTIA KARINA VEROLLI DE O. MOURA

Goiânia – GO

2014

Dedicatória

À toda comunidade científica, profissionais da saúde em geral. Que cada vez mais cresçamos unidos para o desenvolvimento e engrandecimento de nossas profissões para o benefício da sociedade em geral.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha esposa Ava e aos meus filhos Benício e Gregório, razão do meu viver.

AGRADECIMENTO

A todos que cooperaram para o desenvolvimento desse trabalho, em especial professora Kátia, aos colegas Iasmim, Maria Caroline, Geanne, Debora, José Vitor, Kleber, Claudiane. Obrigado pelas orientações, conhecimentos compartilhados, e dedicação de cada um. Agradeço a cada paciente e suas famílias por permitirem a realização do mesmo.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	viii
Lista de Anexos	ix
Siglas, Símbolos e Abreviaturas	x
Resumo	xi
Abstract	xii
1. Introdução	13
1.1 Histórico e definição de pterígio	13
1.2 Componente Genético	14
1.3 Características Neoplásicas	15
1.4 Estresse Oxidativo	16
1.5 Filme Lacrimal	17
1.6 Córnea e Conjuntiva	18
1.7 Fatores de Crescimento	19
1.8 Células progenitoras	20
1.9 Transição epitélio-mesenquimal	21
1.10 Genes associados ao pterígio	21
1.11 Glutathiona S-Transferases	23
2. Objetivos	26
2.1 Objetivos Gerais	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3. Materiais e Métodos	27
3.1 Casuística	27
3.2 Análise Molecular	27
3.3 Análises Estatísticas	30

4. Resultados	31
5. Discussão	39
6. Conclusão	42
Referências	43

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Localização do gene *GSTT1* (pág 23).

FIGURA 2: Gel de agarose da genotipagem do gene *GSTT1* (pág 29).

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Protocolo referente à composição química e concentrações dos reagentes utilizados nas reações de PCR (pág 28).

Tabela II - Característica molecular do primer *GSTT1* (pág 28).

Tabela III- Protocolo de ciclagem das reações de PCR Multiplex (pág 29).

Tabela IV – Distribuição do polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 31).

Tabela V - Distribuição do polimorfismo *GSTT1* em relação ao sexo nos grupos caso e controle (pág 32).

Tabela VI- Comparação da variável cor da pele com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 32).

Tabela VII - Comparação da variável problema ocular na família com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 33).

Tabela VIII - Comparação da variável exposição ocupacional com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 34).

Tabela IX- Comparação da variável fumo com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 35).

Tabela X - Comparação da variável consumo de bebida alcoólica com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 36).

Tabela XI- Comparação da variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 37).

Tabela XII - Comparação da variável Diabetes com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle (pág 37).

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I: Questionário de hábitos sociais.

ANEXO II: Termo de Consentimento Livre Esclarecido

SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Segue abaixo a lista na ordem em que as siglas apareceram.

UV - Ultravioleta

HPV - Papiloma Vírus Humano

p53 - Proteína 53.

K-RAS - Kirsten sarcoma viral

HDM2 - do inglês *Human Murine Double Minute 2*.

TP53 - do inglês *tumour protein 53*

BCL-2 - Linfomas de célula B-2.

IGF-BP2 - Fator de crescimento insulina simile

pH - potencial hidroxiliônico

EGFR - Receptor do fator de crescimento epidérmico

ERK - Quinase regulada por sinal extracelular

JNK - Quinase do tipo c-jun

IL - Interleucina

TNF - Fator de necrose tumoral

FGF-2 - Fator de crescimento de fibroblastos

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

HB-EGF - Fator de crescimento epidérmico ligado a heparina

TGF-C - Fator de crescimento transformador

SCF - Fator de células-tronco

MMP - Metaloproteinase

PDGF - Fator de crescimento derivado das plaquetas

FN1 - Fibronectina 1

ACTN1 - Actinina alpha 1

RUNX3 - do inglês para *Runt-Related Transcription Factor 3*.

COL4A1 - Colágeno Tipo IV Alpha 1

TGM - Transglutaminase

GST - Glutathiona S-Transferase

RESUMO

O pterígio é uma doença inflamatória e degenerativa da superfície ocular onde a conjuntiva avança sobre a córnea formando uma espécie de triângulo fibroso. O distúrbio pode ser caracterizado por uma proliferação celular, processos inflamatórios, fibrose, angiogênese e destruição da matriz extracelular. É popularmente conhecido como “carne no olho” e erroneamente confundido com a “catarata”, sendo já considerado uma doença ocular degenerativa. A doença exibe propriedades semelhantes às de tumores como invasão local, metaplasias de células epiteliais, presença de vírus oncogênicos (Papiloma Vírus Humano – HPV), a inativação do gene supressor de tumor (p53) e perda de heterozigidade. Este trabalho visa comparar a frequência dos genótipos do gene *GSTT1* em relação ao pterígio. O perfil genotípico do polimorfismo do gene *GSTT1* na cidade de Goiânia mostrou que não há diferença estatisticamente significativa quando se compara a frequência do genótipo nulo nos grupos controle e experimental. O genótipo nulo é o mais frequente na população estudada. O genótipo *GSTT1* não está relacionado aos fatores de risco analisados: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional, fumo, HAS e DM.

Palavras-Chave: *GSTT1*, pterígio, polimorfismo, neoplasia.

ABSTRACT

Pterygium is an inflammatory and degenerative ocular surface disease in which the conjunctiva on the cornea grows forming a fibrous tissue in the shape of a triangle. The disorder may be characterized by cell proliferation, inflammatory processes, fibrosis, angiogenesis and destruction of the extracellular matrix. It is erroneously confused the cataract, and the anomaly is considered as a degenerative eye disease. The disease displays similar features to those of tumors in local invasion, metaplasia of epithelial cells, the presence of oncogenic viruses (Human Papilloma Virus - HPV), inactivation of tumor suppressor gene (such as the well-known p53) and loss of heterozygosity. This study aims to compare the frequency of the *GSTT1* genotypes in relation to pterygium. The genotypic profile of the *GSTT1* null polymorphism in Goiânia showed no statistically significant difference when comparing the frequency of the null genotype in the control and experimental groups. The null genotype is more frequent in the population studied. The *GSTT1* genotype is not related to the risk factors analyzed: gender, ethnicity, family cases, occupational exposure, smoking, hypertension and Diabetes.

Keywords: *GSTT1*, pterygium, polymorphism, neoplasia.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Definição de pterígio

O pterígio é uma doença inflamatória e degenerativa da superfície ocular onde a conjuntiva avança sobre a córnea formando uma espécie de triângulo fibroso. Em situações onde a zona óptica central é afetada a visão pode ser prejudicada de forma severa. A exposição aos raios ultravioleta é considerada um fator determinante no aparecimento e progressão da doença, apesar de fatores genéticos estarem envolvidos na patogênese do pterígio. O distúrbio pode ser caracterizado por uma proliferação celular, processos inflamatórios, fibrose, angiogênese e destruição da matriz extracelular (Bradley, et al., 2010).

Um depósito de ferro pode ser observado na borda do pterígio (linha de Stocker) significando cronicidade. O pterígio geralmente invade a córnea por seu lado nasal, mas pode ocorrer também do lado temporal ou em outras localizações. Em superfície é dividido em três porções: corpo, cabeça e capuz. (Markovitsi, et al., 2010) Inflamação crônica, angiogênese e proliferação descontrolada são suas peculiaridades (Balci et al., 2011). Com a progressão, os vasos sanguíneos tornam-se dilatados e congestos, ocorre crescimento da conjuntiva, a córnea pode se tornar irregular, pode haver comprometimento do eixo visual se o pterígio atinge o centro da córnea, levando a uma piora da visão. Certas proteínas contribuem com as mudanças histológicas que ocorrem no desenvolvimento do pterígio: fatores de crescimento, metaloproteinases e citocinas. Essas mudanças histológicas se assemelham aquelas que ocorrem com a pele foto envelhecida (Di Girolamo, 2004).

É popularmente conhecido como “carne no olho” e erroneamente confundido com a “catarata”, sendo já considerado uma doença ocular degenerativa. Porém, pterígios exibem propriedades semelhantes às de tumores como invasão local, metaplasias de células epiteliais, presença de vírus oncogênicos (Papiloma Vírus Humano – HPV), a inativação do gene supressor de tumor (p53) e perda de heterozigossidade. Essas características sugerem a possível natureza neoplásica da afecção (Kau et al., 2006).

O tratamento do pterígio é baseado em aspectos como a evolução e progressão, fatores de risco, sintomas e idade do paciente. As considerações sobre qual a melhor técnica para remoção cirúrgica do pterígio ainda são controversas, as complicações e recidivas preocupam e estimulam novas técnicas e uso de drogas coadjuvantes (Tsai, et al., 2005).

1.2 Mecanismos Envolvidos na Gênese do Pterígio

1.2.1 Estresse Oxidativo e Mecanismos de Defesa

Os radicais livres são um grupo de moléculas instáveis que incluem espécies reativas de oxigênio (radicais superóxido, hidroxilas e peróxido de hidrogênio ou água oxigenada) e espécies reativas de nitrogênio (óxido nítrico por exemplo). Os radicais livres podem reagir quimicamente com DNA, lipídios e proteínas. Causam dano ao DNA, peroxidação lipídica e podem alterar a conformação de proteínas (Kwon et al., 2005).

O estresse oxidativo ocorre quando as defesas celulares contra radicais livres são ineficientes; está intimamente relacionado com diversos distúrbios que levam a inflamação crônica como o pterígio, também se relaciona com doenças cardiovasculares e doenças metaplásicas, além de envelhecimento. Diversas condições oculares se desenvolvem a partir do estresse oxidativo - catarata, degeneração macular, glaucoma, ceratocone e pterígio (Tatlipinar e Akpek, 2005).

A radiação ultravioleta pode induzir o estresse oxidativo através da ativação de substâncias endógenas sensíveis à luz, que interagem com o oxigênio produzindo espécies reativas. Esse estresse oxidativo induzido pelo UV contribui para a ocorrência do foto envelhecimento levando a destruição da matriz extracelular e alterando a síntese de colágeno e elastina (Ribatti et al., 2007). Um processo semelhante ocorre nas estruturas oculares, quando estimuladas pela UV favorecem o aparecimento e progressão do pterígio. Uma redução da quantidade de antioxidantes é observado na córnea com o avanço da idade, o que pode favorecer a ocorrência de estresse oxidativo. Essa redução é ainda mais acentuada quando há exposição crônica à radiação ultravioleta (Hercules et al., 2007).

Algumas evidências mostram o papel do estresse oxidativo na patogênese do pterígio - a presença do 7,8-diidro-8-oxoguanina nos núcleos das células epiteliais com pterígio (Weischer et al., 2007) e produtos da peroxidação de lipídios no tecido com pterígio (Yarosh et al., 2005). Estresse oxidativo estimula a atividade de metaloproteinases e reduz a ação de inibidores teciduais dessas metaloproteinases no ceratocone e no pterígio (Yarosh et al., 2005).

Alguns autores reportam um aumento de óxido nítrico sintase em células epiteliais de pterígio ou uma redução do antioxidante superóxido dismutase no pterígio quando comparado com a conjuntiva. É provável que o óxido nítrico esteja mais elevado no pterígio devido ao seu papel pró-angiogênico. A taxa elevada de óxido nítrico pode ser consequência da exposição ao ultravioleta, assim como ocorre na pele (Kaminska et al., 2004).

O estresse oxidativo se refere a uma formação excessiva ou ineficiência na remoção dos agentes oxidantes. Altos níveis de espécies de oxigênio reativos podem induzir processos apoptóticos em uma grande variedade de tipos celulares ao causar danos ao DNA. Essas espécies de oxigênio reativas ativam fatores de transcrição que levam à expressão de citocinas relacionadas a estados inflamatórios. Substâncias antioxidantes são caracterizadas como aquelas que atrasam ou causam efeitos inibitórios na inflamação (Johnson, 2004).

A superfície ocular apresenta estruturas que combatem a ação de substâncias oxidativas. É a primeira barreira física para essa proteção e compreende o filme lacrimal, a conjuntiva e a córnea (Kaminska et al., 2004).

O pterígio surge a partir de células do limbo alteradas pelos raios ultravioleta e as células progenitoras estão relacionadas com a patogênese da doença. Células progenitoras estão normalmente presentes na córnea. O grande potencial terapêutico das células progenitoras tem chamado atenção dos pesquisadores também para as doenças oculares. Células epiteliais progenitoras podem ser encontradas no limbo ocular, e possuem a capacidade de regenerar a superfície ocular danificada (Lavker et al., 2004).

Células progenitoras do tecido hematopoiético e mesenquimal também estão presentes no pterígio e podem contribuir com a formação do estroma vascular característico da doença. Essas células progenitoras podem são

observadas nos enxertos usados no pós-operatório. Autores descrevem que VEGFR-1 e VEGFR-2 (receptor do fator de crescimento endotelial vascular), dentre outros estão relacionados ao aumento de CD34 nos pacientes com pterígio. Altos níveis de VEGF, fator de células-tronco e substância P agem como sinalizadores no sentido de imobilizar as células progenitoras, o que pode auxiliar na angiogênese observada no pterígio (Ye et al., 2004).

Diversos antioxidantes estão presentes no filme lacrimal e assumem um papel de extrema importância no combate de espécies reativas – ácido ascórbico, glutathione redutase, cistina, ácido úrico e tirosina (Cekic et al., 2002).

O fluido lacrimal também apresenta certa quantidade de imunoglobulina A, lipocalina e outras proteínas protetoras contra a oxidação. Algumas espécies antioxidantes agem estabelecendo uma varredura em busca de componentes de oxigênio reativo; dentro desse grupo se encaixam aminoácidos e proteínas ricas em grupos sulfidrilas (Johnson, 2004).

A córnea é uma das principais estruturas do sistema ocular e é responsável por cerca de 75% da refração que ocorre com a passagem da luz. Também é responsável pela proteção dos tecidos oculares mais internos (lente e retina) agindo como barreira física e bioquímica. A córnea humana consegue absorver até 92% da radiação ultravioleta. A luz ultravioleta leva à formação de espécies reativas de oxigênio na superfície das células epiteliais da córnea (Chandler et al., 2010).

O epitélio da córnea age como um filtro contra raios ultravioleta protegendo as estruturas internas do olho através de três principais maneiras: redução da fluorescência, absorção de raios ultravioleta nos comprimentos de onda até 310nm e conversão da energia luminosa em maiores comprimentos de onda. Os raios ultravioleta modulam a expressão de substâncias antioxidantes e pró-inflamatórias. A supressão de citocinas contribui na redução de desequilíbrios relacionados a formação de espécies oxidativas que poderiam levar a algumas doenças oculares inflamatórias como o pterígio quando há alteração na expressão desses mediadores (Cejkova et al., 2011).

Os principais antioxidantes que podem ser identificados na córnea são: ferritina, ácido ascórbico, glutathione redutase, glutathione peroxidase, catalase e tocoferol. O fornecimento de substâncias como o ácido ascórbico, tocoferol e ácido retinóico para células da córnea inibe de forma significativa os danos

causados por radicais livres podendo até evitar que processos apoptóticos ocorram. A função de proteção da ferritina, por exemplo, ocorre inicialmente no período embrionário, preservando o epitélio da córnea contra estresse oxidativo causado por substâncias endógenas (Marchitti et al., 2011).

A vitamina C está presente intra e extracelularmente. Essa substância participa de diversas reações catalizadas por enzimas atuando como cofator – principalmente reações de hidroxilação. Danos celulares devido a formação de radicais livres gerados por energia de alta intensidade pode ser amenizada em até 70% através da adição de ácido ascórbico (Chen et al., 2005).

A glutathiona redutase é produzida em todas as células. Essa enzima auxilia a proteger contra espécies oxidativas realizando varreduras em busca de radicais livres. Está relacionada com inúmeras funções celulares – regulação do DNA, regulação da síntese de proteínas, sinalização, regulação do ciclo celular, resposta imune e produção de substâncias que participam de processos inflamatórios. Um outra função da glutathiona é o de auxiliar na restauração da forma ativa de substâncias antioxidantes como a vitamina C e a vitamina E (Chen et al., 2005).

1.2.2 Ativação de Fatores de Crescimento

Uma das primeiras respostas celulares à exposição aos raios ultravioleta é a ativação de receptores de fatores de crescimento e cascatas de sinalização, através da formação de espécies reativas de oxigênio. Essa resposta é comum na superfície ocular quando se fala em pterígio, sendo comum também no tecido cutâneo onde esses raios ultravioleta induzem a fosforilação e internalização do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). A resposta se dá em minutos após a exposição e é seguida por uma ativação de três proteínas quinases - quinase regulada por sinal extracelular (ERK), amino-terminal quinase do tipo c-jun (JNK), e p38 (Di Girolamo, 2005).

Nos pacientes com pterígio a ativação do ERK pelo ultravioleta induz a produção de metaloproteinases; a ativação do JNK e do p38 por processos de estresse oxidativo contribui para a produção de interleucinas do tipo 6 e 8. A super-expressão do EGFR no pterígio contribui para a amplificação dessas cascatas de sinalização. Assim, é coerente afirmar que a exposição aos raios

ultravioleta estimulam a produção de citocinas e fatores de crescimento levando a uma progressão e estabelecimento da doença (Di Girolamo, 2005).

As características histológicas do pterígio - proliferação e migração celular, inflamação e alteração da matriz extracelular - são explicadas pelas atuações de inúmeras citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e as metaloproteinases. A exposição crônica aos raios ultravioleta na patogênese do pterígio leva a produção das seguintes citocinas e fatores de crescimento: interleucinas IL-1, IL-6, IL-8, fatores de necrose tumoral (TNF), fatores de crescimento de fibroblastos (FGF-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento epidérmico ligado a heparina (HB-EGF), fator de crescimento transformador (TGF- β) e fator de células-tronco (SCF) (Tsai et al., 2005).

MMP-1 (metaloproteinase), MMP-3, e MMP-9 são as metaloproteinases que podem ser induzidas pela radiação ultravioleta no tecido cutâneo (t250). Em pacientes com pterígio apenas a MMP-1 é induzida pela ultravioleta. As metaloproteinases nos pacientes com pterígio podem ser influenciadas por citocinas pró-inflamatórias ou fatores de crescimento, que auxiliam na progressão da doença (Di Girolamo, 2005).

As características inflamatórias da doença estão ligadas também à presença de imunoglobulinas anormais, linfócitos T e mastócitos (t270). As alterações do padrão proliferativo no pterígio devem ser atribuídos à presença de mitógenos como EGF, HB-EGF, FGF-2 and PDGF (fator de crescimento derivado das plaquetas). IL-6, HB-EGF, PDGF, FGF-2 e TGF- β 1 induzem a migração de células epiteliais ou fibroblastos (Tsai et al., 2005).

1.2.3 Transição epitélio-mesenquimal

A transição epitélio-mesenquimal é um mecanismo pelo qual células epiteliais adquirem características de células mesenquimais. Esse processo pode ocorrer durante o desenvolvimento, cicatrização de feridas e carcinomas. Alguns autores acreditam que a transição epitélio-mesenquimal esteja ativamente relacionada com a patogênese do pterígio, o que explicaria a origem dos fibroblastos que surgem nos pacientes com a doença. Ainda não se tem uma explicação concreta para o aparecimento dos fibroblastos. Acredita-se que

eles possam ser originados a partir do epitélio do limbo que sofreu um processo de transição epitélio-mesenquimal devido a estímulos recebidos por fatores de crescimento ou exposição à luz ultravioleta (Hay, 2005).

A ideia de que o epitélio do limbo possa originar fibroblastos no pterígio é apoiada por modelos animais que confirmam que esse tipo de transição realmente ocorre durante processos de fibrose. Outro aspecto que corrobora esse fato é a expressão de marcadores mesenquimais (vimentina, por exemplo) no epitélio da córnea durante processos de cicatrização (Touhami et al., 2005).

Por outro lado, o aparecimento de fibroblastos no pterígio pode ser resultado de um recrutamento local de miofibroblastos do tecido fibroadiposo periorbital, ou mesmo serem originados de células mesenquimais. A ocorrência de transição epitélio-mesenquimal no pterígio é similar aos mecanismos empregados por células cancerígenas durante a progressão de um tumor (Hay, 2005).

1.3 Componente Genético

Diversas evidências de alterações genéticas no pterígio tem sido mostradas, no entanto há muitas variações nos relatos científicos. Uma parcela dos pacientes acometidos com pterígio apresentam perda de heterozigosidade e instabilidade de microssatélites, mutação no p53, mutações no gene K-RAS (Kirsten sarcoma viral) e hipermetilação do promotor do gene p16 (Lekawa-Ilczuk et al, 2011).

As doenças que apresentam cunho genético podem ser investigadas através do uso de marcadores moleculares. Testes de diagnósticos baseados nesses marcadores estão sendo cada vez mais usados, uma vez que o procedimento é feito de forma não invasiva. Um exemplo desses marcadores moleculares é o gene p53, muitas vezes é investigado se o paciente apresenta polimorfismo nesse gene que possa estar relacionado com a doença em questão (Lekawa-Ilczuk et al, 2011).

O gene p53 localiza-se no braço curto do cromossomo humano 17, e codifica a síntese de uma fosfoproteína nuclear expressa em níveis basais em todas as células normais. A proteína p53 desacelera a progressão do ciclo

celular e permite, portanto, que a célula tenha mais tempo para reparar o DNA antes de entrar na fase S ou mitose. Entretanto, quando a reparação dos danos do DNA não for eficiente, o p53 pode estimular a morte celular programada (apoptose) da célula. Estes efeitos contribuem para a proteção do organismo contra o acúmulo de mutações genéticas, dificultando assim a ocorrência de células geneticamente instáveis e com predisposição à transformação maligna. Entretanto, havendo uma alteração funcional do p53, não há reparo eficiente do DNA, e as mutações acumulam-se nas células em divisão, que podem então, em um dado momento, sofrer alterações funcionais (Lekawa-Iliczuk et al, 2011).

A p53 tem meia vida curta em células normais não submetidas a estresse, cerca de 20 minutos. Na ausência de sinais indutores, os baixos níveis de p53 são mantidos por meio da interação com a proteína HDM2 (*Human Murine Double Minute 2*), uma ubiquitina- ligase. Entretanto, a expressão de HDM2 funciona como um meio para manter os níveis de p53 baixos e reduzir os níveis de proteína em células com estresse, quando o dano for reparado (Fan et al., 2010).

A mutação no gene supressor de tumor p53 produz uma proteína que não é reconhecida pela HDM2 que a metaboliza, elevando a meia vida para 24 horas tornando-a detectável através da imunistoquímica e o anticorpo anti-p53 reconhece a porção conservada da proteína que existe em ambas as formas. As células que apresentam o gene TP53 mutado apresentam um fenótipo instável e tendem a acumular mutações e rearranjos cromossômicos adicionais, levando a uma rápida proliferação de clones com DNA mutado e transformação neoplásica (Fan et al., 2010).

1.3.1 Características Neoplásicas

O pterígio é considerado benigno após invasão local e recorrência; algumas alterações com características neoplásicas são observadas nos pacientes que apresentam as lesões: alta proliferação celular, invasão *in situ* e expressão de marcadores associados com fenótipo transformante. A proliferação da camada fibrovascular no pterígio é acentuada (Tan et al., 2000).

As células epiteliais no pterígio expressam o gene anti-apoptótico BCL-2 (Tan et al., 2000), também expressam substâncias relacionadas ao controle

do ciclo celular - ciclina D1 e antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) em níveis elevados, além da supressão do p27 que é um inibidor de quinase (Tsironi et al., 2001). Outros marcadores expressos por células no pterígio que são atribuídos ao fenótipo transformante incluem aumento da expressão do IGF-BP2 (fator de crescimento insulina simile) e diminuição do IGF-BP3 (Solomon et al., 2003). Outros estudos apontam altos níveis de receptores de lipoproteína de baixa densidade e hidroximetilglutaril coenzima A redutase nos fibroblastos de pterígio e pinguécua, além de alterações no metabolismo do colesterol. Todos esses fatores podem contribuir para a proliferação de fibroblastos que é observada no pterígio (Peiretti et al., 2006).

1.3.2 Genes associados ao pterígio

Várias regiões do genoma mapeadas estão associadas ao pterígio:

a) **FN1** (Fibronectina 1, localizado na região **2q34**). A fibronectina é uma glicoproteína dimérica ou multimérica e solúvel presente no plasma sanguíneo, na superfície celular e na matriz extracelular. Está relacionada com a adesão celular e processos de migração celular, embriogênese, cicatrização, coagulação sanguínea, defesa imunitária e metástase. Essas características contribuem para a confirmação da sua relação com o desenvolvimento do pterígio. Alterações genéticas, principalmente nas suas três regiões de splicing alternativo, responde ao maior potencial do surgimento e progressão da doença (John-Aryankalayil et al., 2006).

b) **ACTN1** (Actinina alpha 1, gene localizado na região 14q24.1). A actinina alpha 1 representa uma proteína do citoesqueleto. É uma proteína ligante da actina e apresenta diversas funções nos diferentes tipos celulares. Está relacionada ao pterígio e a sua capacidade de invadir profundamente os tecidos oculares (Quick e Skalli, 2010).

c) **RUNX3** (sigla do inglês para *Runt-Related Transcription Factor 3* localizado na região 1p36). Esse gene codifica proteínas do domínio Runt. Forma um complexo de subunidades que se liga ao DNA formando promotores

e enhancers para ativar ou suprimir a transcrição do DNA. Dessa forma, atua como supressor de tumor, e está relacionado ao pterígio uma vez que este apresenta características neoplásicas, como discutido anteriormente (Bretz et al., 2012).

d) **COL4A1** (Colágeno Type IV Alpha 1 localizado na região 13q34). Esse gene codifica o principal tipo de colágeno presente nas membranas basais. Relacionado ao desenvolvimento do pterígio em relação à sua capacidade de adesão às células vizinhas (Vahedi e Alamowitch, 2011).

e) **MMP-2** (Matrix Metalopeptidase 2 localizada na região 16q13-q21). Codifica proteínas da matriz envolvidas no catabolismo de matriz extracelular em condições normais, no desenvolvimento embrionário, processos reprodutivos e remodelamento da matriz. Está relacionado ao pterígio e a sua capacidade metastásica (Sivak e Fini, 2002).

f) **CD24** (localizado na região 6q21). Esse gene codifica uma sialoglicoproteína expressada em granulócitos e em células B. Está relacionado à fixação de células em outras células ou tecidos (Henniker, 2001).

g) **TGM-2** (Transglutaminase 2 localizado na região 20q12). As transglutaminases são enzimas que catalizam ligações isopeptídicas e estão relacionadas com processos apoptóticos (Awdeh, 2008).

1.3.4 Glutathione S-Transferases

Vários genes e proteínas estão relacionados com metabolização/detoxificação de xenobióticos, que são usualmente utilizados em estudos de marcadores potenciais de suscetibilidade para desenvolvimento de várias doenças, inclusive câncer, nas quais a etiologia está relacionada à exposição ambiental. Genes que codificam as enzimas de ativação (reação de fase I) ou detoxificação (reação de fase II) de xenobióticos são alvos potenciais para estudos de suscetibilidade genética. Muitos estudos mostram que a

detoxificação celular feita por enzimas está relacionada com a proteção celular. A inativação de xenobióticos e de toxinas endógenas possibilita a preservação da integridade celular, além da inibição dos eventos de citotoxicidade provocados por estas substâncias e que podem ser a causa de algumas doenças, como o câncer (Young et al., 2010).

As glutatona transferases ou glutatona S-transferase, compreendem uma família de enzimas multifatoriais que catalisam o ataque nucleofílico da forma reduzida da glutatona (GSH) a compostos que apresentam um carbono, um hidrogênio, ou um átomo de enxofre eletrofilico. Nos mamíferos são encontradas três famílias de GST: citossólica, mitocondrial e microsomal (Bolth e Their, 2006).

Sete classes distintas foram identificadas nas glutatona S-transferase, diferenciadas pelas sequências de aminoácidos: Alpha, Mu, Pi, Sigma, Theta, Omega e Zeta, sendo a última classe ligada à membrana. Dentre as proteínas citosólicas as *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*, são as que possuem maior correlação com a suscetibilidade ao câncer (Tsai et al., 2004).

O gene *GSTM1*, situado no locus 1p13.1, que é polimórfico possuindo dois alelos funcionais (*GSTM1**A e *GSTM1**B), 8 éxons e um alelo com atividade nula por deleção (*GSTM1**0). Os alelos funcionais possuem a mesma eficácia de detoxificação. A proteína *GSTM1A* contém uma lisina na posição 172, enquanto a proteína *GSTM1B* contém asparagina nesta posição (Tsai et al., 2004).

A subfamília da GST da classe Theta, consiste em 2 genes, *GSTT1* e *GSTT2*, localizados no cromossomo 22q11.2 (Figura 1) e separados por aproximadamente 50kb. Ambos os genes possuem 5 éxons com divisões idênticas de íntron/éxon, mas possuem apenas 55% da identidade de aa. O gene *GSTT1* apresenta polimorfismo nulo, o que resulta na falta das proteínas ativas (Young et al., 2010).

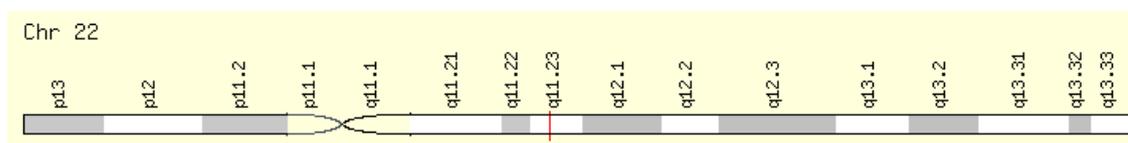


Figura 1: Localização do gene *GSTT1* indicado pela linha de cor vermelha.

Fonte: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1> (2013)

Os genes *GSTM1* e *GSTT1* estão envolvidos no metabolismo de uma ampla variedade de xenobióticos, incluindo substâncias ambientais cancerígenas, agentes quimioterápicos, e as espécies reativas de oxigênio. Além disso, *GSTM1* parece fazer uma contribuição distinta na susceptibilidade ao câncer, porque suas especificidades por substrato pode ser diferente de outras classes de GSTs (Tsai et al., 2004).

O gene da classe Mu (*GSTM1*) e o gene da classe Theta (*GSTT1*) são polimórficos e estão ausentes ou deletados de forma homozigótica em 40% a 50% e 16% a 24% das diferentes populações étnicas, respectivamente. Muitas evidências sugerem que *GSTT1* e *GSTM1* humanas participam da desativação de espécies reativas de oxigênio que estariam envolvidas nos processos celulares de inflamação, envelhecimento e doença degenerativas (Tsai et al., 2004).

O genótipo nulo polimórfica *GSTM1* tem sido encontrada em 20% -50% das populações de várias origens étnicas, e este genótipo tem sido correlacionada com o risco de vários câncer relacionados com o tabaco. Portanto, o polimorfismo *GSTM1* pode contribuir para formação de BaP 7,8-diol 9,10-epóxido (BPDE) de aduto de DNA e progressão de pterígio (Young et al., 2010).

A glicosilase é responsável pela remoção do composto 7,8-diidro-8-oxoguanina que é um produto da foto oxidação altamente mutagênico. Esse produto é originado pela presença de espécies reativas de oxigênio. O *GSTM1* e *GSTT1* pertence a uma classe de enzimas envolvidas na detoxificação de carcinógenos; a deleção de ambos alelos caracteriza o genótipo nulo, o qual inexistente a atividade enzimática e aumenta a sensibilidade aos raios ultravioleta (Tsai et al., 2004).

Este estudo analisou a frequência dos genótipos do marcador molecular *GSTT1* da presença ou ausência do polimorfismo em relação ao pterígio.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o perfil genotípico do polimorfismo do gene *GSTT1* em um grupo caso (pacientes com pterígio) e grupo controle (sem a doença) na cidade de Goiânia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar o polimorfismo do gene *GSTT1* no grupo caso e no grupo controle;
2. Verificar qual é o genótipo mais frequente relacionado ao pterígio na população estudada;
3. Verificar possíveis associações entre o genótipo *GSTT1* e possíveis cofatores de risco: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional, fumo, HAS e DM.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Casuística

Foram coletadas amostras de sangue periférico (10mL) de pacientes portadores de pterígio, e pacientes não portadores da doença, para análise molecular de DNA para o gene *GSTT1*. As amostras foram divididas em dois grupos de acordo com a presença ou ausência da doença: grupo caso formado por 91 pacientes diagnosticados com pterígio e grupo controle formado por 23 pacientes sem a doença.

As amostras de sangue foram coletas no hospital do banco de olhos na cidade de Goiania, Goiás; e a análise genética molecular foi realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon-PUC-Goiás.

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, bem como assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo II).

4.2 Análise Molecular

A extração de DNA das amostras de sangue periférico coletadas foram realizadas de acordo com as instruções do Kit comercial Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin® (GE 39 Healthcare, USA). Por conseguinte foram submetidas á quantificação no espectrofotômetro NanoVue™ Plus de acordo com as instruções do fabricante, tendo relevância apenas as amostras cujo o resultado da quantificação em relação a concentração de DNA foi superior a 5ng/µl.

Após a extração do DNA as amostras foram submetidas à amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (sigla proveniente do idioma inglês, *Polymerase Chain Reaction* – PCR) alelo-específica para detectar o polimorfismo do gene *GSTT1*.

As reações de PCR foram realizadas de acordo com o protocolo modificado 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 etídio (5mg/mL) sendo visualizado em seguida no sistema de vídeo-documentação (*Image Master VDS®* - Amersham Pharmacia Biotech, EUA).

Indivíduos com o genótipo presente foram classificados quando em presença de banda, com uma ou duas cópias do alelo do gene e aqueles sem bandas, com ausência de alelos homozigóticos, como genótipo nulo.

Tabela I - Protocolo referente à composição química e concentrações dos reagentes utilizados nas reações de PCR - NPR 2014

REAGENTES	[] UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão	1X	2,5 µL
MgCl ₂ (50mM)	1,5 mM	1,0 µL
dNTPs	1,25 mM de cada	0,5 µL de cada = 2 µL
Taq polimerase 5 U/µL	2,5 U/µL	0,3 µL
Primer sense	20 pMol	1 µL
Primer antisense	20 pMol	1 µL
H ₂ O Mili Q	---	13,2 µL
DNA amostra	200 ng/µL	4 µL
Volume final		25 µL

Legenda: NPR: Núcleo de Pesquisas Replicon

Os fragmentos genômicos das amostras foram amplificados utilizando *primers* específicos para o GSTT1 para PCR, nas condições da Tabela II:

Tabela II- Característica molecular do primer *GSTT1*- NPR 2014

Primer	Seqüência	Tamanho Molecular
GSTT 1	F: 5' TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC 3' R: 5' TCACCGGATCATGGCCAGCA 3'	480pb

Legenda: NPR: Núcleo de Pesquisas Replicon

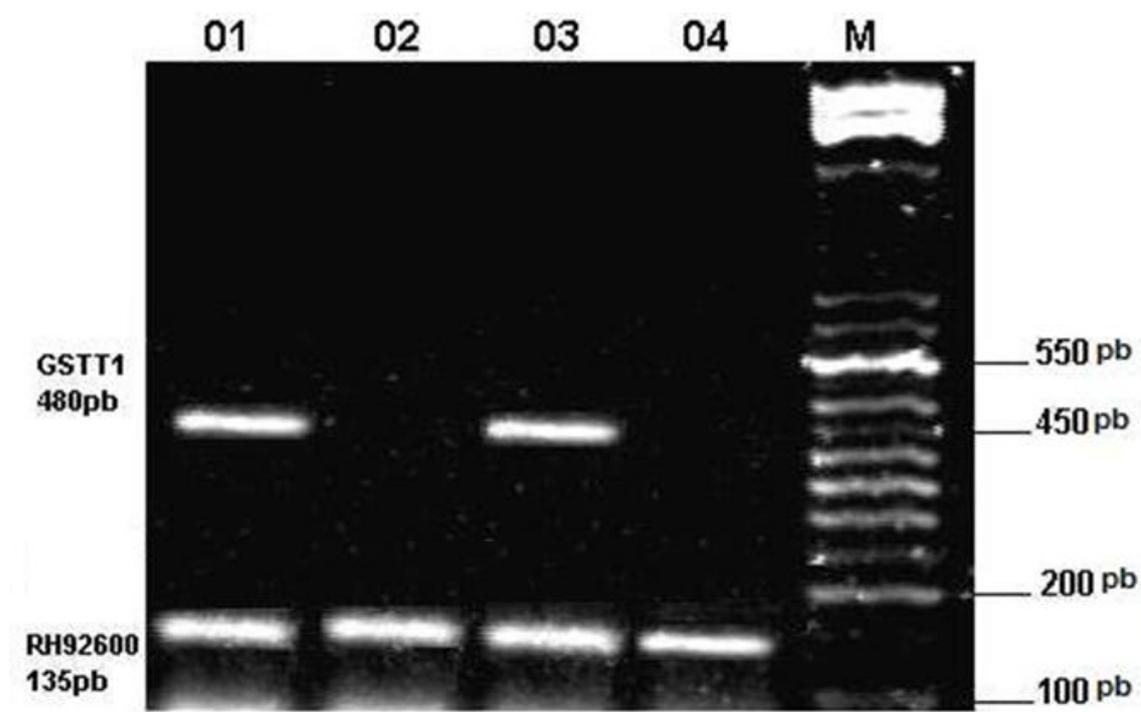
A amplificação da seqüência do DNA de interesse foi submetida por 35 ciclos que seguem a seguinte ciclagem térmica (Tabela III):

Tabela III- Protocolo de ciclagem das reações de PCR Multiplex - NPR 2014

<i>TEMPERATURA</i>	<i>TEMPO</i>	<i>Nº. CICLOS</i>
94°C	5 minutos	1
94°C	1 minuto	
56°C	90 segundos	35
72°C	1 minuto	
72°C	7 minutos	1
4°C	∞	---

Legenda: NPR: Núcleo de Pesquisas Replicon

Para análise dos produtos obtidos pela PCR, o volume total da PCR (25µL) foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2,0 % em solução tampão Tris-borato de EDTA (TBE) a 1x.



O gel foi submetido a um campo elétrico constante de 8 V/cm por um período de 2 horas aproximadamente. Posteriormente, o gel foi corado com Brometo de etídio (EtBR) a 5 µg/mL, por um período de 20 minutos. O registro

visual do gel foi feito com o auxílio de um sistema de vídeo-documentação (*Image Master VDS®* - Amersham Pharmacia Biotech, EUA), para análise da amplificação.

A amplificação do fragmento de 135pb refere-se ao primer RH92600, sendo este usado como controle endógeno da reação. Quando visualizados fragmentos 480pb atribui-se a genótipo positivo *GSTT1*. Os genótipos *GSTT1* (nulo) foram identificados pela ausência dos fragmentos de amplificação 480pb, desde que o controle interno fosse visualizado (Figura 1), assim como controle positivo para *GSTT1*.

4.3 Análises Estatísticas

Os dados da genotipagem, do grupo em estudo e controle, foram tabulados em planilhas do software Excel® (2003). Posteriormente foi aplicado o teste Exato de Fisher para verificação de possíveis associações entre a análise molecular e o pterígio. Para a realização dos testes foi utilizado o programa BioEstat® 3.0 (Sociedade Civil Mamirauá / MCT-CNPq).

5. RESULTADOS

Foram analisadas as frequências genótípicas do gene *GSTT1* no grupo de pacientes com pterígio e no grupo controle (tabela IV). No grupo caso (n=91) foi constatado 17,6% (16/91) com a presença do gene *GSTT1* e 82,4% (75/91) com genótipo nulo. Já no grupo controle (n=23), foi detectado 4,3% (1/23) de presença do gene *GSTT1* e 95,7% (22/23) com genótipo nulo. De acordo com os resultados obtidos não é possível afirmar que existe diferença estatisticamente significativa quando se compara a frequência dos genótipos presente e nulo nos grupos estudados, $p=0,096$.

Tabela IV – Distribuição do polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

	Presente		Nulo		P^a
	n	%	n	%	
Caso (n=91)	16	17,6	75	82,4	0,0960
Controle (n=23)	1	4,3	22	95,7	

^a Valor de P do teste Exato de Fisher.

A tabela V mostra a distribuição genotípica entre o sexo masculino e o sexo feminino nos diferentes grupos estudados. Analisando o polimorfismo correspondente ao gene *GSTT1* nos indivíduos do sexo feminino, 20% (10/50) do grupo caso apresentam o genótipo presente e 80% (40/50) apresentam o genótipo polimórfico nulo; enquanto 8,3% (1/12) dos pacientes pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 91,7% (n=11/12) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Esse resultado não é considerado estatisticamente relevante uma vez que o valor de p é maior do que 0,05 ($p=0,316$).

Analisando o polimorfismo do gene *GSTT1* nos indivíduos do sexo masculino, 14,6% (6/41) destes pertencem ao grupo caso e apresentam o genótipo presente, enquanto 85,4% (35/41) apresentam os genótipo polimórfico nulo. No grupo controle nenhum paciente apresenta o genótipo presente e 100% (11/11) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Assim como nas mulheres, nos homens a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,2209$).

Tabela V - Distribuição do polimorfismo *GSTT1* em relação ao sexo nos grupos caso e controle.

Sexo	Presente		Nulo		Total		<i>P</i> ^a
	n	%	n	%	n	%	
Feminino							
Caso	10	20,0	40	80,0	50	100,0	0,3160
Controle	1	8,3	11	91,7	12	100,0	
Masculino							
Caso	6	14,6	35	85,4	41	100,0	0,2209
Controle	0	0,0	11	100,0	11	100,0	

^aValor *P* do Teste Exato de Fisher.

A tabela VI mostra a distribuição genotípica entre pacientes brancos, pardos e negros nos diferentes grupos estudados. Analisando o gene *GSTT1* nos indivíduos brancos, 24% (12/50) dos indivíduos pertencentes ao grupo caso apresentam genótipo presente e 76% (38/50) apresentam o genótipo polimórfico nulo; enquanto 6,2% (1/16) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 93,8% (15/16) apresentam o genótipo polimórfico. Esse resultado não é considerado estatisticamente significativo.

Tabela VI- Comparação da variável cor da pele com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Cor da pele*						<i>P</i> ^a
	Brancos		Pardos		Negros		
	n	%	n	%	n	%	
Caso							
Presente	12	24,0	2	8,3	2	11,8	0,1791
Nulo	38	76,0	22	91,7	15	88,2	
Total	50	100,0	24	100,0	17	100,0	
Controle							
Presente	1	6,2	0	0,0	0	0,0	0,6888
Nulo	15	93,8	3	100,0	4	100,0	
Total	16	100,0	3	100,0	4	100,0	

^a Valor de *P* do teste G

* Informada pela paciente

Analisando o polimorfismo *GSTT1* nos indivíduos considerados pardos, apenas 8,3% (2/24) indivíduos pertencente ao grupo caso apresentam o genótipo presente e 91,7% (22/24) desses indivíduos apresentam o genótipo

polimórfico nulo; enquanto nenhum indivíduo pertencente ao grupo controle apresenta os genótipos normais e 100% (3/3) apresentam o genótipo polimórfico. Indivíduos com essa etnia não mostraram resultados com diferença estatisticamente significativa.

Analisando o polimorfismo *GSTT1* nos indivíduos negros, 11,8% (2/17) dos indivíduos pertencentes ao grupo caso apresentam genótipo presente e 88,2% (15/17) apresentam o genótipo polimórfico nulo; enquanto nenhum indivíduo pertencente ao grupo controle apresenta os genótipos normais e 100% (4/4) apresentam o genótipo polimórfico. Indivíduos com essa etnia também não mostraram resultados com diferença estatisticamente significativa.

A tabela VII evidencia a análise da variável problema ocular na família com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com pterígio que apresentam casos de pterígio na família, 25% (10/40) possuem o genótipo presente e 75% (30/40) possuem o polimorfismo nulo. Dos pacientes com pterígio que não apresentam nenhum caso de pterígio na família, 15,6% (5/32) possuem o genótipo presente e 84,4% (27/32) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente relevante ($p=0,344$).

Tabela VII - Comparação da variável problema ocular na família com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Problema ocular na família						<i>P</i> ^a
	Sim		Não		Não Sabe		
	n	%	n	%	n	%	
Caso							
Presente	10	25,0	5	15,6	2	10,5	0,3440
Nulo	30	75,0	27	84,4	17	89,5	
Total	40	100,0	32	100,0	19	100,0	
Controle							
Presente	1	7,1	0	0,0	0	0,0	0,5999
Nulo	13	92,9	4	100,0	5	0,0	
Total	14	100,0	4	100,0	5	100,0	

^a Valor *P* do Teste G

Dos pacientes que são do grupo controle livres de pterígio, mas que apresentam casos de pterígio na família, 7,1% (1/14) possuem o genótipo presente e 92,9% (13/14) possuem o polimorfismo nulo. Dos pacientes sem pterígio que não apresentam nenhum caso de pterígio na família, 100% (4/4)

possuem o genótipo nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,5999$).

A tabela VIII mostra uma comparação da variável exposição ocupacional com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com pterígio que tiveram exposição ocupacional, 14,3% (9/63) possuem o genótipo presente e 85,7% (54/63) possuem o polimorfismo nulo para o gene *GSTT1*. Dos pacientes com pterígio que não tiveram exposição ocupacional 25% (7/28) apresentam genótipo presente e 75% (21/28) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente relevante ($p=0,1726$).

Tabela VIII - Comparação da variável exposição ocupacional com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Exposição ocupacional							
	Sim		Não		P^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Caso								
Presente	9	14,3	7	25,0				
Nulo	54	85,7	21	75,0	0,1726	0,5000	0,1650	1,5156
Total	63	100,0	28	100,0				
Controle								
Presente	0	0,0	1	16,7				
Nulo	17	100,0	5	83,3	0,2609	0,0000	--	--
Total	17	100,0	6	100,0				

^a Valor P do Teste Exato de Fisher.

Dos pacientes do grupo controle que relataram exposição ocupacional, 100% (17/17) apresentam o polimorfismo nulo. Daqueles que não relataram exposição ocupacional, 16,7% (1/6) possuem o genótipo presente enquanto 83,3% (5/6) apresentam o genótipo polimórfico. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,2609$). A OR na tabela VIII indica que em cada 7 pessoas exposta ocupacionalmente, uma poderia desenvolver o pterígio.

A tabela IX mostra a distribuição genotípica entre pacientes tabagistas ou não nos grupos estudados. Analisando o polimorfismo do gene *GSTT1* nos indivíduos tabagistas, 30,4 % (7/23) dos indivíduos pertencentes ao grupo caso apresentam genótipo presente e 69,6% (16/23) apresentam o genótipo polimórfico nulo; enquanto 100% (2/2) dos indivíduos pertencentes ao grupo

controle apresentam o genótipo nulo. A diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,0639$ e $OR=2,8681$).

Tabela IX- Comparação da variável fumo com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Fumo							
	Sim		Não		P^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Caso								
Presente	7	30,4	9	13,2				
Nulo	16	69,6	59	86,8	0,0639	2,8681	0,9249	8,8941
Total	23	100,0	68	100,0				
Controle								
Presente	0	0,0	1	4,8				
Nulo	2	100,0	20	95,2	0,9130	0,0000	--	--
Total	2	100,0	21	100,0				

^a Valor P do Teste Exato de Fisher.

Analisando o polimorfismo *GSTT1* nos indivíduos não tabagistas, 13,2% (9/68) do grupo caso apresentam genótipo presente e 86,8% (59/68) apresentam o genótipo polimórfico nulo, enquanto 4,8% (1/21) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 95,2% (20/21) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Esta diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,913$ e $OR=0,0000$). O valor OR indica que seriam necessários 5 pacientes fumantes para 1 apresentar a possibilidade de desenvolver a doença.

Foi comparado o hábito de consumir bebida alcoólica dos pacientes do grupo caso e do grupo controle (tabela X) e sua relação com o polimorfismo do gene *GSTT1*. Nos pacientes do grupo caso com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 21,1% (4/19) com a presença do gene *GSTT1* e 78,9% (15/19) dos pacientes apresentaram *GSTT1* nulo. No grupo controle os pacientes com o hábito de consumir bebida alcoólica foram detectados 100% (3/3) do gene *GSTT1* nulo. O resultado não é considerado significativo ($p=0,4393$; $OR= 1,3333$).

Tabela X - Comparação da variável consumo de bebida alcoólica com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Bebida Alcoólica							
	Sim		Não		<i>P</i> ^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Caso								
Presente	4	21,1	12	16,9				
Nulo	15	78,9	60	84,5	0,4393	1,3333	0,3763	4,7249
Total	19	100,0	71	100,0				
Controle								
Presente	0	0,0	1	5,0				
Nulo	3	100,0	19	95,0	0,8696	0,0000	--	--
Total	3	100,0	20	100,0				

^a Valor *P* do Teste Exato de Fisher.

Nos pacientes do grupo caso que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 16,9% (12/71) de presença do gene *GSTT1* e 84,5% (60/71) dos pacientes apresentaram *GSTT1* nulo e no grupo controle os pacientes que relataram não consumir bebida alcoólica foram detectados 5% (1/20) de presença do gene *GSTT1* e 95% (19/20) dos pacientes apresentaram o gene *GSTT1* nulo, sendo esta diferença estatisticamente não significativa ($p=0,8696$; $OR= 0,0000$). O valor da OR indica que a cada 20 pessoas que fazem o uso de bebida alcoólica, 1 desenvolve o pterígio.

A tabela XI mostra a comparação da variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com pterígio que apresentam problemas de hipertensão, 20,5% (8/39) possuem o genótipo presente e 79,5% (31/39) possuem o polimorfismo nulo para o gene *GSTT1*. Dos pacientes com pterígio que não apresentam hipertensão 15,4% (8/52) apresentam genótipo presente enquanto 84,6% (44/52) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente relevante ($p=0,3579$; $OR=1,4194$).

Dos pacientes do grupo controle com hipertensão, 9,1% (1/11) apresentam o genótipo presente enquanto 90,9% (10/11) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Daqueles que não apresentam hipertensão, 100% (12/12) possuem o genótipo polimórfico nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,4783$; $OR=0,0000$). A OR na tabela XI indica que em cada 12 pessoas com hipertensão, uma poderia desenvolver o pterígio.

Tabela XI- Comparação da variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	HAS							
	Sim		Não		P^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Caso								
Presente	8	20,5	8	15,4				
Nulo	31	79,5	44	84,6	0,3579	1,4194	0,4808	4,1897
Total	39	100,0	52	100,0				
Controle								
Presente	1	9,1	0	0,0				
Nulo	10	90,9	12	100,0	0,4783	--	--	--
Total	11	100,0	12	100,0				

^a Valor P do Teste Exato de Fisher.

A tabela XII estabelece a comparação da variável Diabetes com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com pterígio que apresentam Diabetes, 13,3% (3/22) possuem o genótipo presente e 86,4% (19/22) possuem o polimorfismo nulo para o gene *GSTT1*.

Tabela XII - Comparação da variável Diabetes com o polimorfismo *GSTT1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Diabetes							
	Sim		Não		P^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Caso								
Presente	3	13,6	13	18,8				
Nulo	19	86,4	56	81,2	0,4209	0,6802	0,1747	2,6473
Total	22	100,0	69	100,0				
Controle								
Presente	1	12,5	0	0,0				
Nulo	7	87,5	15	100,0	0,3478	--	--	--
Total	8	100,0	15	100,0				

^a Valor P do Teste Exato de Fisher.

Dos pacientes com pterígio que não apresentam Diabetes 18,8% (13/69) apresentam genótipo presente enquanto 81,2% (56/69) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente relevante ($p=0,6802$; $OR=0,1747$).

Dos pacientes do grupo controle com Diabetes, 12,5% (1/8) apresentam o genótipo presente enquanto 87,5% (7/8) apresentam o genótipo polimórfico. Daqueles que não apresentam Diabetes, 100% (15/15) possuem o genótipo polimórfico. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,3478$; $OR=0,0000$). A OR na tabela XIII indica que em cada 16 pessoas com Diabetes, uma poderia desenvolver o pterígio.

6. DISCUSSÃO

Considerável porcentagem dos casos de pterígio apresentam uma base genética complexa e são causados, na verdade, pela combinação de inúmeros fatores de risco. Esses fatores, sejam eles genético ou ambiental, não atuam sozinhos no desenvolvimento da doença. Esses mesmo fatores também podem detectados em indivíduos que não apresentam a doença. Os genes de importância relevante na patogênese do pterígio têm sido investigados (Fan et al., 2010).

Diversos estudos investigam se os polimorfismos genéticos das enzimas anti-oxidantes (como a *GSTT1*) contribuem para o desenvolvimento do pterígio. Um grupo de pesquisadores do Irã (Othman et al., 2012) analisou 112 pacientes e os resultados apóiam a ideia de que a proteína codificada pelas *GSTT1* apresenta um fator protetivo contra o estresse oxidativo causado por doenças oculares degenerativas como é o caso da Degeneração Macular ocasionada pela idade e também do pterígio (Othman et al., 2012). O resultado desse trabalho não mostrou ser estatisticamente significativo uma vez que a frequência dos genótipos *GSTT1* presente e nulo nos grupos estudados obteve $p=0,096$.

Um grupo de cientistas da Arábia Saudita (Abu-Amero et al., 2009) analisou os polimorfismos nulos do grupo de GSTs, incluindo o gene *GSTT1*, em neuropatias ópticas. Eles encontraram resultados significativos mostrando que o genótipo nulo é prevalente no grupo com a neuropatia quando comparado com grupo controle ($p=0,017$) (Abu-Amero et al., 2009). O resultado desse grupo não condiz com o resultado da presente pesquisa. Um dos fatos que pode explicar a discrepância dos resultados é o tamanho da amostra. A amostra do presente estudo foi de 91 enquanto que o grupo da Arábia (Abu-Amero et al., 2009) usou uma amostra de 228 pacientes.

Nossos resultados não mostraram diferença significativa quando comparamos a prevalência do pterígio em homens e mulheres em relação ao polimorfismo nulo do gene *GSTT1*. Um grupo de estudos da Índia (Bhardwaj Veena et al., 2013) analisou um grupo de pacientes trabalhadores rurais e também não encontrou resultado estatisticamente significativo quanto à

diferença de sexo e o pterígio, o que condiz com o nosso resultado. Em contrapartida, uma pesquisa conduzida na Cingapura (Wong et al., 2001) mostrou diferença na prevalência da doença em relação ao sexo. Esse grupo encontrou uma maior prevalência no sexo masculino. Eles trabalharam com uma amostra de tamanho considerável (n=1717) e encontraram $p < 0,001$. Esse resultado é completamente distinto do nosso, onde não houve prevalência em nenhum dos sexos. É importante destacar que o tamanho amostral do presente trabalho (n=91) foi considerado pequeno quando comparado com o do grupo de estudo de Cingapura.

Os resultados não mostraram diferença significativa quando comparamos a prevalência do pterígio nos diferentes grupos étnicos em relação ao polimorfismo nulo do gene *GSTT1* ($p=0,1791$). A literatura científica aponta uma maior prevalência do pterígio nos asiáticos, sendo que dentre eles, há maior frequência na Malásia quando comparado com outros locais como China e Índia (Ang et al., 2005). Um grupo de estudo da ilha de Barbados (Luthra et al., 2001) mostraram que a etnia influencia no desenvolvimento do pterígio. Com uma amostra de 4709 pacientes eles mostraram que o pterígio é mais frequente na população daquele país.

Também não houve resultado estatisticamente relevante quando comparamos a exposição ocupacional com o pterígio. É reconhecido pela literatura científica que a exposição ocupacional é um dos fatores de risco para o desenvolvimento da doença (Hercules et al., 2007). Atribuímos o resultado não significativo ao tamanho da amostra. Um estudo em Taiwan obteve resultados diferente dos nossos. No grupo estudado em Taiwan houve uma diferença estatisticamente relevante no que diz respeito ao pterígio e a exposição ocupacional ($p < 0,05$). É interessante ressaltar que os cientistas responsável pelo experimento chegaram à conclusão de que o aumento da exposição em uma hora por dia durante um ano aumento a chance de desenvolver pterígio em 0,8% (Tang et al., 1999).

Assim como nosso resultado quando se compara o Tabagismo e o desenvolvimento do pterígio, não foi encontrado relação significativa para esses dois aspectos na literatura. Estudos realizados no Irã mostraram que o fato de o paciente ser fumante não está relacionado com o aparecimento da

doença. Eles analisaram 6497 residentes de Teerã e não encontraram um resultado significativo (Fotouhi et al., 2010).

Um grupo de cientistas da Espanha analisou a relação entre pterígio e o consumo de álcool. Assim como nossos resultados eles não encontraram uma relação positiva para confirmar que o consumo de álcool possa estar relacionado com o aparecimento da doença (Viso et al., 2011). Em contrapartida, um estudo realizado na Índia (Marmamula et al., 2013) encontrou diferença significativa quando comparou o consumo de álcool e o aparecimento do pterígio. A principal diferença nos estudos em questão é o tamanho da amostra. O grupo da Índia usou uma amostra considerada grande, composta de 5586 pacientes, enquanto nossa pesquisa usou uma amostra de 91 pacientes.

Em relação à hipertensão e à Diabetes, não foi obtido resultado significativo estatisticamente para afirmar que essas condições influenciam no desenvolvimento da doença. Estudos realizados na China confirmam nossos resultados. Pesquisaram 2742 pacientes não houve resultados relevantes quanto à hipertensão, diabetes e pterígio (Zhong et al., 2012).

7. CONCLUSÃO

O perfil genotípico do polimorfismo do gene *GSTT1* na cidade de Goiânia mostrou que não há diferença estatisticamente significativa quando se compara a frequência do genótipo nulo nos grupos controle e experimental.

O genótipo nulo é o mais frequente na população estudada;

O genótipo *GSTT1* não está relacionado aos fatores de risco analisados: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional, fumo, HAS e DM.

REFERÊNCIAS

ABU-AMERO KK, MILCAREK B, BOSLEY TM. GSTM1 and GSTT1 deletion genotypes in various spontaneous optic neuropathies in Arabs. *Br J Ophthalmol*. 2009 Aug;93(8):1101-4.

ANG M, LI X, WONG W, ZHENG Y, et al. Prevalence of and racial differences in pterygium: a multiethnic population study in Asians. *Ophthalmology*. 2012 Aug;119(8):1509-15.

AWDEH, R. M., DESTAFENO, J. J., BLACKMON, D. M., CUMMINGS, T. J., & KIM, T. (2008). The presence of T-lymphocyte subpopulations (CD4 and CD8) in pterygia: evaluation of the inflammatory response. *Adv Ther*, 25(5), 479-487.

BALCI, M.; SAHIN, S.; MUTLU, F. M.; YAGCI, R.; et al. Investigation of oxidative stress in pterygium tissue, *Mol. Vis*. 17 (2011) 443–447.

BHARDWAJ VEENA M.S., DAS ALAKA Priyadarshani, BHARDWAJ Gaurav. Pterygium – A Study Which Was Done on A Rural Based Population. *J Clin Diagn Res*. Sep 2013; 7(9): 1936–1937.

BOLTH, H.; THEIR, R. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology. *Current Drug Metabolism*, v. 7, n. 6, p. 613-628, 2006.

BRADLEY, J.C.; YANG, W.; BRADLEY, R.H.; REID, T.W.; et al. The science of pterygia, *Br. J. Ophthalmol*. 94 (2010) 815–820.

BRETZ, N., NOSKE, A., KELLER, S., ERBE-HOFMANN, N et al. (2012). CD24 promotes tumor cell invasion by suppressing tissue factor pathway inhibitor-2 (TFPI-2) in a c-Src-dependent fashion. *Clin Exp Metastasis*, 29(1), 27-38

CEJKOVA, J.; ARDAN, T.; CEJKA, C.; LUYCKX, J. Favorable effects of trehalose on the development of UVB-mediated antioxidant/pro-oxidant imbalance in the corneal epithelium, proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase induction, and heat shock protein 70 expression, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 249 (2011) 1185–1194.

CEKIC, O.; OHJI, M.; HAYASHI, A.; FANG, X.Y. et al. Effects of humidified and dry air on corneal endothelial cells during vitreal fluid-air exchange, *Am. J. Ophthalmol.* 134 (2002) 75–80.

CHANDLER, H.L.; REUTER, K.S.; SINNOTT, L.T.; NICHOLS, J.J. Prevention of UV-induced damage to the anterior segment using class I UV-absorbing hydrogel contact lenses, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51 (2010) 172–178.

CHEN, Y.; SHERTZER, H.G.; SCHNEIDER, S.N., NEBERT, D. Wet al. Glutamate cysteine ligase catalysis: dependence on ATP and modifier subunit for regulation of tissue glutathione levels, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 33766–33774.

DI GIROLAMO N, CHUI J, CORONEO MT, WAKEFIELD D. Pathogenesis of pterygia: role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. *Prog Retin Eye Res* 2004; 23:195-228.

DI GIROLAMO N, CORONEO M, WAKEFIELD D. Epidermal growth factor receptor signaling is partially responsible for the increased matrix metalloproteinase-1 expression in ocular epithelial cells after UVB radiation. *Am J Pathol* 2005;167:489-503

FAN, B.J.; LIU, K.; WANG, D.Y.; THAM, C.C.; et al. Association of polymorphisms of tumor necrosis factor and tumor protein p53 with primary open-angle glaucoma, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51 (2010) 4110–4116.

FOTOUHI, A; HASHEMI, H; KHABAZKHOOB, M; MOHAMMAD K. Prevalence and risk factors of pterygium and pinguecula: the Tehran Eye Study. *Eye* (2009) 23, 1125–1129;

HENNIKER, A. J. (2001). CD24. *J Biol Regul Homeost Agents*, 15(2), 182-184.

HERCULES LA, VIVEIROS MM, SCHELLINI SA, et al. Exposure of Tenon's capsule fibroblasts of pterygium to cyclosporin 0.05%. *Arq Bras Oftalmol* 2006;69:831-5.

HAY ED. The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it. *Dev Dyn* 2005;233:706-20

JOHN-ARYANKALAYIL, M., DUSHKU, N., JAWORSKI, C. J., Cox, C. A., et al. (2006). Microarray and protein analysis of human pterygium. *Mol Vis*, 12(55-64).

JOHNSON, G.J. The environment and the eye, *Eye* 18 (2004) 1235–1250.

KAMINSKA B, GAWEDA-WALERYCH K, ZAWADZKA M. Molecular mechanisms of neuroprotective action of immunosuppressants -facts and hypotheses. *J Cell Mol Med* 2004;8:45-58.

KAU, H. C.; TSAI, C. C.; LEE, C. F.; KAO, S. et al. Increased oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in human pterygium. *Eye*, London, v. 20, p. 826-31, 2006.

KWON YS, HONG HS, KIM JC, et al. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:454-60.

LAVKER RM, TSENG SC, SUN TT. Corneal epithelial stem cells at the limbus: looking at some old problems from a new angle. *Exp Eye Res* 2004;78:433-46

LEKAWA-ILCZUK ,A.; ANTOSZ, H.; RYMGAYŁŁO-JANKOWSKA, B.; ZARNOWSKI, T. Expression of double strand DNA breaks repair genes in pterygium, *Ophthalmic Genet.* 32(2011) 39–47.

LUTHRA R, NEMESURE BB, WU SY, XIE SH, et al. Frequency and risk factors for pterygium in the Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 2001 Dec;119(12):1827-32.

MARMAMULA, S; KHANNA, RC; RAO, GN. Population-based assessment of prevalence and risk factors for pterygium in the South Indian state of Andhra Pradesh: the Andhra Pradesh Eye Disease Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Aug 9;54(8):5359-66.

MARCHITTI, S.A.; CHEN, Y.; THOMPSON, D.C.; VASILIOU, V. Ultraviolet radiation: cellular antioxidant response and the role of ocular aldehyde dehydrogenase enzymes, *Eye Contact Lens* 37 (2011) 206–213.

MARKOVITSI, D.; GUSTAVSSON, T.; BANYASZ, A. Absorption of UV radiation by DNA: spatial and temporal features, *Mutat. Res.* 704 (2010) 21–28.

OTHMAN, H.; GHOLAMPOUR, A.R.; SAADAT, I.; FARVARDIN-JAHROMI, M.; et al. Age-related macular degeneration and genetic polymorphisms of glutathione S-transferases M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1), *Mol. Biol. Rep.* 39 (2012) 3299–3303.

PEIRETTI E, DESSI S, MULAS MF, et al. Fibroblasts isolated from human pterygia exhibit altered lipid metabolism characteristics. *Exp Eye Res* 2006;83:536-42

QUICK, Q., & SKALLI, O. (2010). Alpha-actinin 1 and alpha-actinin 4: contrasting roles in the survival, motility, and RhoA signaling of astrocytoma cells. *Exp Cell Res*, 316(7), 1137-1147.

RIBATTI D, NICO B, MAXIA C. Neovascularization and mast cells with tryptase activity increase simultaneously in human pterygium. *J Cell Mol Med* 2007;11:585-9.

SIVAK, J. M., & FINI, M. E. (2002). MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology. *Prog Retin Eye Res*, 21(1), 1-14

SOLOMON A, GRUETERICH M, LI DQ. Overexpression of insulin-like growth factor-binding protein-2 in pterygium body fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:573-80.

TAN DT, LIU YP, SUN L. Flow cytometry measurements of DNA content in primary and recurrent pterygia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1684-6.

TANG FC, CHEN SC, LEE HS, LIN WF, et al. Relationship between pterygium/pinguecula and sunlight exposure among postmen in central Taiwan. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 1999 Aug;62(8):496-502.

TATLIPINAR S, AKPEK E. K. Topical ciclosporin in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1363-7.

TOUHAMI A, Di PASCUALE MA, KAWATIKA T, et al. Characterisation of myofibroblasts in fibrovascular tissues of primary and recurrent pterygia. *Br J Ophthalmol* 2005;89:269-74.

TSAI, Y. Y.; CHENG, Y. W.; LEE, H.; TSAI, F. J et al. P53 gene mutation spectrum and the relationship between gene mutation and protein expression in pterygium. *Molecular Vision*, Atlanta, v.11, p. 50-55, 2005.

TSAI YY, LEE H, TSENG SH. Evaluation of TNF-alpha and IL- 1beta polymorphisms in Taiwan Chinese patients with pterygium. *Eye* 2005;19:571-4.

TSIRONI S, IOACHIM E, MACHERA M. Presence and possible significance of immunohistochemically demonstrable metallothionein expression in pterygium versus pinguecula and normal conjunctiva. *Eye* 2001;15(Pt 1):89-96.

VAHEDI, K., & ALAMOWITCH, S. (2011). Clinical spectrum of type IV collagen (COL4A1) mutations: a novel genetic multisystem disease. *Curr Opin Neurol*, 24(1), 63-68.

VISO, E.; GUDE, E.; RODRÍGUEZ-ARES, M.T. Prevalence of pinguecula and pterygium in a general population in Spain. *Eye (Lond)*. Mar 2011; 25(3): 350–357.

WEISCHER M, ROCKEN M, BERNEBURG M. Calcineurin inhibitors and rapamycin: cancer protection or promotion? *Exp Dermatol* 2007;16:385-93.

WONG TY, FOSTER PJ, JOHNSON GJ, SEAH SK et al. The prevalence and risk factors for pterygium in an adult Chinese population in Singapore: the Tanjong Pagar survey. *Am J Ophthalmol*. 2001 Feb;131(2):176-83.

YAROSH DB, PENA AV, NAY SL. Calcineurin inhibitors decrease DNA repair and apoptosis in human keratinocytes following ultraviolet B irradiation. *J Invest Dermatol* 2005;125:1020-5.

YE J, SONG YS, KANG SH, et al. Involvement of bone marrow-derived stem and progenitor cells in the pathogenesis of pterygium. *Eye* 2004;18:839-43

YOUNG, C. H.; LO, Y. L.; TSAI, Y. Y.; SHIH, T. S et al. *CYP1A1* gene polymorphisms as a risk factor for pterygium. *Molecular Vision*, Atlanta, v. 16, p. 1054-1058, 2010.

ZHONG H, CHA X, WEI T, LIN X, et al. Prevalence of and risk factors for pterygium in rural adult chinese populations of the Bai nationality in Dali: the Yunnan Minority Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Sep 25;53(10):6617-21.

ANEXO I

QUESTIONÁRIO DE HÁBITOS SOCIAIS

Análise dos polimorfismos dos genes TP53, GSTM1 e GSTT1 em amostras de pterígio:

Nome: _____

Ficha de inscrição (BANCO DE OLHOS): _____

Idade: _____

Sexo: masculino feminino

Cor: Branco Negra Amarela Outros: _____

Nível de escolaridade:

sem escolaridade 2 grau completo 1 grau completo 2 grau incompleto 1 grau incompleto nível superior : _____ Outros: _____

Você tem alguma dessas doenças abaixo relacionadas:?

Pressão Alta Diabetes Enxaqueca Má circulação ou varizes

Pressão Baixa Problemas no coração Qual? _____ Outras doenças: _____

Você tem alguém na família com problema ocular?

sim não não sei

Se a resposta for sim, qual é o grau de parentesco e qual a doença?

Qual a sua profissão? Há quanto tempo a exerce?

Você fuma? Sim: Não : As vezes :

Se a resposta for sim ou às vezes, quantos cigarros dias 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 bebidas alcoólicas?

Você ingere carne?

Sim Não As vezes

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

Você pratica algum esporte ou atividade física?

Sim Não As vezes

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

Assinatura do paciente:

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

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

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA: Título: Análise dos polimorfismos dos genes TP53, GSTM1 e GSTT1 em amostras de pterígio. Coordenador Responsável: Dra. Katia Karina Verolli de Oliveira Moura Telefones para contato: 3946-1385 e 3946-1442

Eu, abaixo qualificado, após ter sido esclarecido verbalmente e depois de ler o resumo do projeto realizado pelo Núcleo de Pesquisa Replicon da Universidade Católica de Goiás, declaro assumir, por espontânea vontade, livre de qualquer coação, a responsabilidade pela participação voluntária e gratuita, no grupo de pacientes integrantes da pesquisa. Estou ciente de que o trabalho consiste na análise molecular de amostras biológicas, e que os mesmos serão armazenados e utilizados em trabalhos posteriores mantendo o objetivo de complementar o diagnóstico.

A referida cirurgia tem como objetivo eliminar a doença ou ao menos diminuir os sintomas decorrentes da mesma, tendo como principal complicação a recorrência da condição, além de formação de granulomas, simbléfaro, formação de cicatrizes corneanas no local da retirada do pterígio; sendo rara a possibilidade de piora ou perda da visão nesses casos.

A equipe médica envolvida, bem como a instituição cooparticipante se comprometem a acompanharem os casos que evoluírem com intercorrências, sendo responsáveis pelo encaminhamento dos mesmos quando necessário.

A instituição responsável se compromete a indenizar os sujeitos da pesquisa quanto aos custos decorrentes de sua participação na pesquisa, ou mesmo quanto aos eventuais possíveis danos causados aos mesmos decorrentes de sua participação na pesquisa.

DECLARO que compreendi que a obtenção das amostras citadas acontecerá sob minha total ciência, e sob os procedimentos adequados pela equipe responsável pela pesquisa, sem qualquer prejuízo a minha pessoa e que será mantido o total sigilo dos resultados, que serão entregues apenas a mim ou responsável. Outrossim, tenho pleno conhecimento de que o material será utilizado apenas e tão somente para fins de pesquisa, além de autorizar, pelo presente, que os testes e os resultados sejam utilizados em estudos científicos, ressaltando o sigilo quanto ao meu nome, reservando-me o direito de conhecer ou não os resultados da referida pesquisa.

Assinatura do pesquisador: _____

Assinatura do paciente: _____

Data: ____ / ____ / ____