



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

**ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS DO GENE *GSTM1* EM AMOSTRAS DE
PTERÍGIO EM GOIÂNIA-GOIÁS**

ANICÉZIO DE PAULA RIBEIRO JÚNIOR

GOIÂNIA – GO

2014



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

ANICÉZIO DE PAULA RIBEIRO JÚNIOR

**ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS DO GENE *GSTM1* EM AMOSTRAS DE
PTERÍGIO EM GOIÂNIA-GOIÁS**

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

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

**GOIÂNIA – GO
2014**

Dedicatória

À minha esposa Paula aos meus pais Anicézio e Lúcia, aos meus irmãos Rogéria e Frederico que sempre me ofereceram tanto apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A todos que participaram com dedicação na organização e estruturação do estudo e em especial a Professora Kátia, Dr.Francisco, Dra.Luciana e aos colegas Iasmim, Claudiane, Ecclesia, Débora, Maria Caroline, José Vitor, Kleber.

A todos vocês muito obrigado.

AGRADECIMENTO

Agradeço também a cada paciente e suas famílias por permitirem a realização do mesmo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ANEXOS	viii
SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	01
1.1 DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS.....	01
1.2 INCIDÊNCIA.....	02
1.3 EXPOSIÇÃO SOLAR	02
1.4 PREVENÇÃO	04
1.5 NEOPLASIAO	04
1.6 ESTRESSE OXIDATIVO.....	05
1.7 COMPONENTE VIRAL	06
1.8 FATORES DE CRESCIMENTO E CITOCINAS	07
1.9 APOPTOSE.....	07
2. INTRODUÇÃO	09
2.1 GSTS.....	10
2.2 A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DA FAMÍLIA GST NO PTERÍGIO.	11
2.3 AS FUNÇÕES REALIZADAS PELA <i>GSTM1</i> NORMAL	12
2.4 CONSEQUÊNCIAS DA PRESENÇA DE <i>GSTM1</i> MUTANTE.....	13
3. OBJETIVOS.....	14
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1 CASUÍSTICA.....	15
4.2 ANÁLISE MOLECULAR	15
4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	18
5. RESULTADOS.....	19
6. DISCUSSÃO	28
7. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura 3-D da Glutathiona-S-transferase M1 humana.	11
Figura 2: Localização genômica do gene <i>GSTM1</i>	12
Figura 3: Gel de agarose do gene <i>GSTM1</i>	17

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Protocolo referente à análise da presença ou ausência de polimorfismo do gene <i>GSTM1</i> por PCR	16
Tabela II - Características moleculares dos primers usados para o gene <i>GSTM1</i>	16
Tabela III - Protocolo da ciclagem da PCR para o gene <i>GSTM1</i>	17
Tabela IV - Distribuição do polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle. ...	19
Tabela V - Distribuição do polimorfismo <i>GSTM1</i> em relação ao sexo nos grupos caso e controle.	20
Tabela VI - Comparação da variável cor da pele com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle.	20
Tabela VII - Comparação da variável problema ocular na família com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle.	22
Tabela VIII - Comparação da variável exposição ocupacional com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle.	23
Tabela IX - Comparação da variável fumo com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle.	24
Tabela X - Comparação da variável consumo de bebida alcoólica com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos caso e controle.	25
Tabela XI - Comparação da variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos pterígio e controle.	26
Tabela XII - Comparação da variável Diabetes com o polimorfismo <i>GSTM1</i> nos grupos pterígio e controle.	27

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 aparecem.

- 1 - **UV** - Ultra-violeta.
- 2 - **TP53** - do inglês *Tumor Protein 53*.
- 3 - **IgG** - Imunoglobulina G.
- 4 - **IgE** - Imunoglobulina E.
- 5 - **PCR** - Reação em cadeia da polimerase.
- 6 - **HPV** - Papiloma vírus humano.
- 7 - **TNF** - Fator de necrose tumoral.
- 8 - **IL-8** - Interleucina 8.
- 9 - **EFG** - Fator de crescimento epidermal.
- 10 - **HB-EGF** - Fator de crescimento epidermal ligado à heparina.
- 11 - **VEGF** - Fator de crescimento vascular endotelial.
- 12 - **bFGF** - Fator de crescimento de fibroblasto básico.
- 13 - **PDGF** - Fator de crescimento derivado das plaquetas.
- 14 - **PCNA** - Antígeno nuclear da proliferação celular.
- 15 - **Bcl-2** - linfomas de célula B-2.
- 16 - **BAX** - Proteína X associada ao Bcl-2.
- 17 - **GST** - Glutathiona-S-transferases.

RESUMO

Os primeiros relatos sobre pterígio datam da época de Hipócrates, mesmo assim essa condição ainda esconde mistérios sobre sua patogenia de forma tal que ainda nos dias de hoje pode ameaçar a saúde da visão de inúmeras pessoas. É uma formação fibrosa de conjuntiva cresce exageradamente e de forma anormal sobre a córnea, sendo composta por tecido epitelial e subepitelial, e altamente vascularizada. Um grande número de fatores está relacionado com a patogenia do pterígio tais como, aspectos físicos, calor, poeira e outras partículas presentes na atmosfera; e fatores biológicos como certos mecanismos imunológicos, mecanismos que envolvem a reorganização da matriz celular, fatores de crescimento, citocinas, apoptose e fatores angiogênicos. O pterígio acomete indivíduos que habitam principalmente países de clima tropical, localizados próximo à linha do Equador e que trabalham expostos ao sol; assim, a incidência é maior na região entre 40 graus de latitude ao norte e ao sul do Equador. Considerando a necessidade de investigar melhor a associação entre os polimorfismos do *GSTM1* e a formação do pterígio, o presente trabalho tem o objetivo analisar essa relação. A análise do polimorfismo do gene *GSTM1* para o grupo caso constatou que há diferença significativa entre o genótipo nulo do gene *GSTM1* nos grupos caso e controle. O genótipo nulo do gene *GSTM1* é estatisticamente significativo na população masculina, mas não na feminina. O genótipo nulo do gene *GSTM1* é estatisticamente significativo na etnia branca, mas não na parda ou negra. O genótipo nulo do gene *GSTM1* não está relacionado aos fatores de risco analisados: casos na família, exposição ocupacional, fumo, hipertensão e diabetes.

Palavras-Chave: GST, *GSTM1*, pterígio, polimorfismo.

ABSTRACT

The first reports about pterygium date back to Hippocrates. This disease still hides mysteries about its pathogenesis in a way that even today it threaten vision health of many people around the world. It is a formation of fibrous tissue that grows excessively and with an abnormal shape on the cornea. The anomaly consists of epithelial and subepithelial tissue and it is highly vascularized. A large number of factors are associated with the pathogenesis of pterygium such as physical factors: heat, dust and other particles in the atmosphere; and biological factors such as immunological mechanisms, mechanisms that involve the reorganization of the extracellular matrix, growth factors, cytokines, apoptosis, and angiogenic factors. The pterygium affects individuals who mainly inhabit tropical countries located near the equator and who working out in the sun; thus, the incidence is higher in the region between 40 degrees latitude north and south of the Equator. Considering the need to further investigate the association between *GSTM1* polymorphisms and the formation of pterygium, this paper aims to analyze this relationship. The analysis of the null polymorphism of the *GSTM1* gene for the case group found a significant difference between the *GSTM1* null genotype in case and control groups. The null genotype of the *GSTM1* gene is statistically significant in males, but not in female. The null genotype of the *GSTM1* gene is statistically significant in Caucasians, but not in Brown or Black. The *GSTM1* null genotype is not related to the risk factors analyzed: cases in family, occupational exposure, smoking, hypertension and diabetes.

Keywords: GST, *GSTM1*, pterygium, polymorphism.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 DEFINIÇÃO E ASPECTOS GERAIS

Os primeiros relatos sobre pterígio datam da época de Hipócrates, mesmo assim essa condição ainda esconde mistérios sobre sua patogenia de forma tal que ainda nos dias de hoje pode ameaçar a saúde da visão de inúmeras pessoas. A descrição atual da doença é compatível com descrições antigas onde há a formação de uma massa fibrovascular que avança sobre a superfície da córnea, assumindo geralmente um formato triangular (Di Girolamo et al., 2004).

O pterígio é uma das doenças mais comuns no meio oftalmológico, popularmente conhecida como "carne crescida". É uma formação fibrosa de conjuntiva que cresce exageradamente e de forma anormal sobre a córnea, sendo composta por tecido epitelial e subepitelial, altamente vascularizada, apresentando também tecido conjuntivo. O pterígio é geralmente indolor, embora possa causar irritação no olho em qualquer fase. Na maioria das vezes os sintomas se relacionam com a sensação de corpo estranho, ardor ocular e olhos vermelhos. Sinais de conjuntivite crônica, espessamento da conjuntiva e sintomas de conjuntivite moderada também são sintomas freqüentes e recorrentes. O diagnóstico é feito através do exame físico e complementado pelo exame biomicroscópico (Di irolamo et al., 2004).

Há diversas semelhanças entre pterígio e câncer, uma vez que ambas condições mostram proliferação celular irregular e alta taxa de recorrência após a retirada do tecido anormal (Kase et al., 2007). A recorrência da doença é mais comuns entre pacientes jovens e está associada com o histórico familiar. Um grande número de fatores está relacionado com a patogenia do pterígio tais como, aspectos físicos calor, poeira e outras partículas presentes na atmosfera; e fatores biológicos como certos mecanismos imunológicos, mecanismos que envolvem a reorganização da matriz celular, fatores de crescimento, citocinas, apoptose e fatores angiogênicos (Chui et al., 2008).

1.2 INCIDÊNCIA

O pterígio é considerado uma condição benigna de alta prevalência e seu alto índice de recorrência faz com que seja necessário a realização de procedimentos cirúrgicos frequentes (Golu et al., 2011). Os países localizados na área tropical têm uma prevalência média de até 22% em relação ao acometimento da doença. Nos países que não estão localizados dentro dessa faixa a prevalência do pterígio não excede 2% da população e as lesões são ocasionadas principalmente em pacientes que estiveram expostos à luz solar de forma intensa. A luz atinge os olhos com intensidade 20 vezes maior no lado nasal do que no temporal, este fato justifica o aparecimento do pterígio no lado nasal com uma frequência bem maior (91%) (Shiroma et al., 2009).

Há uma maior incidência do pterígio em pessoas do sexo masculino, e isso é atribuído aos diferentes estilos de vida que caracterizam os sexos – acredita-se que o homem passe mais tempo em ambientes abertos e em contato com o sol do que as mulheres. Como o pterígio é altamente relacionado à exposição ao sol, e principalmente à radiação ultravioleta, isso implica que a prevenção do mesmo é feita através do uso de óculos para a proteção dos olhos. Também o uso de lentes especiais que filtrem raios UV com maior eficiência é importante quando a exposição for necessária e inevitável (Chui et al., 2008).

A grande incidência de pterígio ocorre entre as idades de 20 e 49 anos e, muito raramente, em indivíduos com menos de 15 anos. Além da radiação UV, em grande número de casos parece ter cunho hereditário, porém vários outros fatores, como poeira, vento, calor, inflamação, infecção, têm sido relatados como possíveis causas associadas (Golu et al., 2011).

1.3 EXPOSIÇÃO SOLAR

Um dos conceitos mais antigos em relação ao pterígio é a influência exercida pelo estilo de vida. Acredita-se que o trabalho ao ar livre ou uma maior exposição ao Sol além de outros fatores ambientais como poeira, por exemplo, possam levar a uma irritação ocular crônica (causa específica da doença) (Di Girolamo et al., 2004).

A alta correlação da doença com os raios ultravioletas permitiu o levantamento da hipótese de que a exposição a esse tipo de radiação tenha uma

ação direta na patologia da doença. As estruturas anatômicas ao redor do olho (borda orbital superior, sobrancelha e proeminência nasal) resulta em um certo grau de proteção contra a incidência direta dos raios UV. Apesar disso, não há proteção suficiente quando a incidência se dá através da parte inferior ou mesmo lateralmente (Golu et al., 2011).

Certos relatos indicam a possibilidade da exposição solar agir de forma adicional à exposição a partículas sólidas presentes na atmosfera sendo que a ação conjunta levaria a uma inflamação crônica da superfície ocular (Di Girolamo et al., 2004). Por outro lado, a verificação de uma alta prevalência da incidência do pterígio em marinheiros e pescadores (locais onde não há presença de poeira) evidencia a relação da doença com o albedo nos ambientes marinhos (o albedo se refere à refletividade da superfície de um corpo). Esses ambientes podem contribuir para o desenvolvimento da doença devido à alta exposição de luz refletida pelas superfícies aquáticas (Evereklioglu et al., 2003). Tem sido sugerido que a luz difusa deve seguir um caminho óptico alternativo à medida que entra na região ocular, de forma tal que atingem as células do limbo (Di Girolamo et al., 2004).

Os efeitos dos raios UV-A e UV-B são considerados prejudiciais. A radiação UV está relacionada com a produção de radicais livres que se associam a diversas moléculas orgânicas resultando na inativação das mesmas e levando a padrões anormais de proliferação celular (Said et al., 2007). A forma, a incidência e a distribuição da doença dão suporte à ideia da sua relação com a radiação UV. A ação da radiação UV pode ser direta através de efeitos citotóxicos ou indireta através da formação de radicais livres (Shiroma et al., 2009).

No meio intracelular os radicais livres causam defeitos oxidativos ao reagir com macromoléculas tais como nucleotídeos, proteínas e lipídios. Esses radicais livres consistem principalmente de moléculas como ânions superóxido e peróxido que sofrem detoxificação por enzimas como as glutatona, dismutases e catalases. O equilíbrio dessas substâncias garante a homeostase dos tecidos; se algum fator, endógeno ou exógeno, estimula estresse oxidativo, certas macromoléculas de caráter básico poderão ser desnaturadas (Novaes et al., 2007).

1.4 PREVENÇÃO

Os efeitos negativos da radiação UV sob os olhos são cumulativos. Quanto mais há exposição aos raios UV, maiores são os riscos. Com o passar dos anos, aumenta a probabilidade de surgirem problemas oculares. É recomendável o uso de óculos escuros considerados de qualidade que possam oferecer uma proteção adequada aos olhos. É importante que os óculos sejam usados durante todo o ano e não apenas no verão (Tung, et al., 2010).

Óculos escuros de qualidade têm a capacidade de bloquear até 100% das radiações UV-A e UV-B; esses acessórios não devem distorcer as imagens ou alterar as cores, as lentes devem ter coloração cinza, verde ou marrom, com capacidade de filtrar cerca de 75 a 90% da luz visível. Os óculos de grau também devem ter um certo nível de proteção UV (Said et al., 2007).

Acessórios como bonés, viseiras, chapéus, entre outros podem oferecer proteção adicional, principalmente se há necessidade de exposição solar por tempo prolongado (Di irolamo et al., 2004).

1.5 NEOPLASIA

Doenças de caráter neoplásico apresentam proliferação descontrolada, independente do requerimento de novas células; ocorre uma diminuição da diferenciação celular; e alteração de comunicação e adesão celular entre células adjacentes. Análises histológicas e imunohistoquímicas associam o pterígio a uma proliferação neoplásica através da alteração das células do limbo e também alterações dos produtos de alguns genes supressores de tumor, como é o caso do *Tp53* (Tsai et al., 2004). Mesmo que o pterígio não sofra processos metastáticos, a doença é considerada como neoplasia, justamente por apresentar defeitos no controle da proliferação celular. Além disso, o processo de progressão da condição pode ser agravado pelos raios UV que podem levar ao aparecimento de mutação nesses genes supressores de tumor como o p53 (Lai et al., 2006).

Os achados histológicos no tecido conjuntivo de pacientes com pterígio são altamente heterogêneos. Uma das primeiras alterações sofridas pelo tecido conjuntivo diz respeito à hialinização (transformação de proteínas em material vítreo-rosado). Nesse processo, colágeno degradado e material granular proveniente da

destruição de componentes do tecido se acumulam na região da inflamação (Tsai et al., 2004).

Os processos inflamatórios observados estão relacionados com a resposta imune frente a patogênese e progressão da doença. A invasão de linfócitos no tecido afetado e técnicas de imunofluorescência evidenciaram a presença de IgG e IgE. A partir desses resultados a patologia do pterígio também passou a ter como explicação um componente imunológico (Schneider et al., 2006).

Outras evidências para esse fato é a confirmação de que certas substâncias exógenas e irritantes (poeira e pólen, por exemplo) poderiam provocar o aumento da produção de IgE e disparar, assim, um processo inflamatório. A essa sequência ainda pode ser considerada a liberação de citocinas e fatores de crescimento que são responsáveis pela aceleração da proliferação da membrana do pterígio, bem como angiogênese (Tsai et al., 2005).

Também tem sido sugerido que a luz ultravioleta pode causar danos na superfície ocular, de modo a levar a uma resposta inflamatória que resultará em uma proliferação fibrovascular além de angiogênese na região da córnea. Técnicas imunohistoquímicas mostraram um aumento no número de células provenientes do sistema imunológico, no entanto, certos autores acreditam que os processos inflamatórios relacionados ao pterígio não são os principais responsáveis pela proliferação celular, pela angiogênese ou pela recorrência da doença, sendo considerado uma consequência secundária (Golu, 2011).

1.6 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é entendido como um desequilíbrio entre a formação e a remoção de agentes oxidantes em determinado tecido, ocasionado pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio ou por uma diminuição de antioxidantes endógenos. Os radicais livres, a exemplo do ânion superóxido, hidroxil, alcóxil, peróxil e hidroperoxil são espécies químicas que apresentam um ou mais elétrons os quais não estão emparelhados em seu orbital eletrônico mais externo, ao passo que as espécies reativas de oxigênio são quaisquer espécies oxidantes altamente reativas, incluído esses referidos radicais livres (Evereklioglu et al., 2003).

As espécies reativas de oxigênio são formadas em várias diferentes situações em um determinado organismo como, por exemplo, na produção e regulação dos

ácidos nucléicos, na detoxificação dos xenobióticos, durante a ação de células do sistema imunológico devido a uma resposta do processo inflamatório, na transdução de sinais celulares, na influência do meio (como nos casos de exposição à radiação UV). Um dos mecanismos mais relevante da produção dessas espécies reativas de oxigênio é o metabolismo energético. O excesso desses compostos ocasiona diversos prejuízos aos tecidos, desde envelhecimento a patologias crônicas não transmissíveis, além de doenças auto-imunes. Essas substâncias reagem com nossas estruturas celulares, danificando-as: comprometem nosso equilíbrio orgânico e favorecem o aparecimento das doenças (Solomon et al., 2006).

Estresse oxidativo pode ser ocasionado por exposição aos raios UV. Tem sido relatados casos de estresse oxidativo em pacientes com pterígio que quando comparados com grupo controle apresentam elevadas concentrações de proteínas como a survivina (uma proteína inibidora de apoptose). Essa proteína está associada com a oxidação do DNA e com a interrupção da expressão do Tp53 (Solomon et al., 2006). Foi demonstrado que a presença de depósitos de ferro no tecido com pterígio está diretamente relacionado com o estresse oxidativo. Células afetadas apresentam distúrbios na homeostase do ferro (Evereklioglu et al., 2003).

1.7 COMPONENTE VIRAL

Outra hipótese para a patogenia é a teoria viral. A técnica da PCR permitiu uma investigação mais detalhada nas amostras de DNA em tecido normal e tecido lesionado, na busca por vírus que supostamente estariam envolvidos no processo. Sabe-se que a presença de vírus no tecido ocular pode causar infecção do tipo óculo-dermal. Foi relatado a relação da doença com o HPV (papiloma vírus humano) (Chalkia et al., 2013).

Existem alguns relatos da presença do Vírus herpes simplex e do HPV no pterígio e esse fato está intimamente relacionado com o risco de recidiva da doença (Detorakis et al., 2001). Outros estudos confirmaram a presença de HPV (tipos 6, 11 e 16) em 50% dos pacientes com pterígio (Gallagher et al., 2001). Certas pesquisas contradizem a teoria viral negando a existência de vírus no pterígio. O resultado positivo para presença do HPV poderia ser apenas devido a um fator regional (Dushku et al., 1999; Chen et al., 2003)

1.8 FATORES DE CRESCIMENTO E CITOCINAS

Defeitos genéticos causados por radiação UV afetam a expressão de citocinas, fatores de crescimento e receptores dos fatores de crescimento. Essas substâncias estão também relacionadas à homeostase da córnea. A presença alterada das mesmas no pterígio indica uma resposta ocular ao dano ocasionado pelas lesões (Kase, 2007).

As citocinas que podem ser induzidas pela ação dos raios UV são a IL-1 (atua em conjuntos com fator de necrose tumoral - TNF) que leva a um reparo nas células da córnea; IL-6 ativa receptores de integrina que atuam na migração celular; e IL-8 que apresenta atividade mitogênica e angiogênica (Di Girolamo et al., 2004).

Os fatores de crescimento relacionados com o pterígio e relatados na literatura são: EFG (fator de crescimento epidermal), HB-EGF (fator de crescimento epidermal ligado à heparina), VEGF (fator de crescimento vascular endotelial, bFGF (fator de crescimento de fibroblasto básico), PDGF (fator de crescimento derivado das plaquetas), dentre outros (Kase, 2007).

O VEGF está envolvido nos processo de angiogênese e é produzido e liberado por fibroblastos como uma resposta à inflamação e outros estímulos (incluindo radiação UV) Esse fator de crescimento tem sido relatado em quantidades significativas no epitélio lesionado de pterígio quando comparado com análises da conjuntiva normal. Esses achados foram confirmados por PCR em tempo real, e revelaram uma relação entre a expressão do VEGF e a recorrência da doença no pós-operatório (Kase, 2007).

1.9 APOPTOSE

A análise da expressão de genes relacionados com a regulação da apoptose mostra que nos pacientes afetados com a doença, ocorrem alterações nos processos que levam à morte celular programada (Sekundo et al., 2010).

Existem evidências de que a expressão alterada de certos genes podem contribuir para o aparecimento e progressão do pterígio. PCNA (antígeno nuclear da proliferação celular), Bcl-2 (linfomas de célula B-2), BAX (proteína X associada ao Bcl-2) e p53 nas suas formas mutantes foram significativamente mais frequentes em

grupos experimentais do que em grupos controles, o que reforça essas evidências (Liang et al., 2011).

2. INTRODUÇÃO

O pterígio consiste em uma doença crônica caracterizada pela invasão de uma massa fibrovascular e triangular, no tecido conjuntivo em direção à córnea (Chowers et al., 2001; Weinstein et al., 2002). Nesse caso, esse crescimento excessivo de estroma de fibroblastos e vasos sanguíneos é acompanhada por um infiltrado de células inflamatórias e um acúmulo anormal de matriz extracelular composta de elastina e colagénio (Seifert et al., 2001).

O pterígio acomete indivíduos que habitam principalmente países de clima tropical, localizados próximo à linha do Equador e que trabalham expostos ao sol; assim, a incidência é maior na região entre 40 graus de latitude ao norte e ao sul do Equador (Shiroma et al., 2009).

A patogênese do pterígio ainda não foi totalmente elucidada (Bradley, 2010). Entretanto, as evidências científicas recentes tem relacionado os seguintes fatores ao pterígio: mecanismos antiapoptóticos, mecanismos imunológicos, citocinas, fatores de crescimento, matriz extracelular, fatores genéticos, infecções virais, dentre outros fatores (Chui et al., 2008; Di Girolamo et al., 2004). Vale ressaltar que alguns estudos epidemiológicos observaram uma relação positiva entre a exposição solar e o desenvolvimento do pterígio. Nesse sentido, alguns estudos reportaram uma expressão anormal da proteína Tp53 no epitélio, sendo o pterígio considerado uma proliferação celular descontrolada relacionada à exposição a luz ultravioleta (Chowers et al., 2001). Em estudo prévio, observou-se que as mutações do p53 foram detectados em 16% das amostras de indivíduos com pterígio (Tsai et al., 2005). No entanto, ainda não existem atualmente explicações que fundamentem a causa da mutação do p53 no pterígio (Tung et al., 2010).

Sabe-se que a mutação no gene supressor de tumor *TP53* acarreta a produção de uma proteína não reconhecida que a metaboliza, o que eleva a meia-vida para 24 horas, e a torna detectável por imuno-histoquímica. Nesse caso, o anticorpo anti-p53 reconhece a porção conservada da proteína que existe em ambas as formas. Contudo, as células com a mutação do gene *TP53* mutado demonstram um fenótipo instável e tendem a acumular mutações e rearranjos cromossômicos adicionais, ocasionando a rápida proliferação de clones com DNA mutado e transformação neoplásica (Chen et al., 2010; Solozobov et al., 2010).

Outro fator relevante relatado em alguns estudos é que a exposição à luz ultravioleta causa estresse oxidativo e leva à regulação positiva de muitos mediadores potenciais do crescimento do pterígio (Kau et al., 2006; Tsai et al., 2005; Perra et al., 2006). O estresse oxidativo caracteriza-se pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e espécies nitrogenadas, com consequente dano ao DNA, peroxidação lipídica e alterações na estrutura das proteínas. Nesse contexto, o genótipo nulo da Glutathione S-transferase, o qual confere sensibilidade aumentada aos raios UV, são encontrados com frequência em pacientes jovens com pterígio (Tsai et al., 2004).

2.1 GSTs

As glutathione-S-transferases (GSTs) compreendem uma família de enzimas multifatoriais, com a função de catalisar o ataque nucleofílico da forma reduzida da glutathione (GSH) (Hayes et al., 2005). As GSTs são umas das enzimas que assumem as funções de defesa contra oxidação provocada por espécies reativas de oxigênio. Em humanos, a família GST pode ser dividida nas classes α , μ , π , σ , κ , e θ . A família μ , comumente denominada (M) está localizada no cromossomo 1p13.3. Existem três alelos *GSTM1* (0), *GSTM1* (A) e *GSTM1* (B). *GSTM1* (0) corresponde a uma deleção e quando está em homozigose não expressa nem o RNAm, nem a proteína correspondente. Os alelos *GSTM1* (A) e *GSTM1* (B) codificam monômeros que formam enzimas homo e heterodiméricas. Nos polimorfismos do *GSTM1*, *GSTM1* 0/0 é geralmente chamado de *GSTM1* nulo (Tsai et al., 2004).

O gene da classe μ (*GSTM1*) e o gene da classe θ (*GSTT1*) são polimórficos e, de acordo com Scianni et al. (2008), estão ausentes ou deletados de forma homozigótica em cerca de 50% e 24% das diferentes populações étnicas, respectivamente. A figura 1 mostra a estrutura 3-D da *GSTM1*. A expressão polimórfica do genótipo nulo resulta de uma permutação desigual entre duas regiões idênticas que flanqueiam o gene *GSTM1*, resultando em uma deleção de 15Kb que contém o gene inteiro (Hayes et al., 2005). Alguns autores sugerem que *GSTT1* e *GSTM1* humanas participam da desativação de espécies reativas de oxigênio que estariam envolvidas nos processos celulares de inflamação, envelhecimento e doenças degenerativas (Bolth e Thier, 2006).

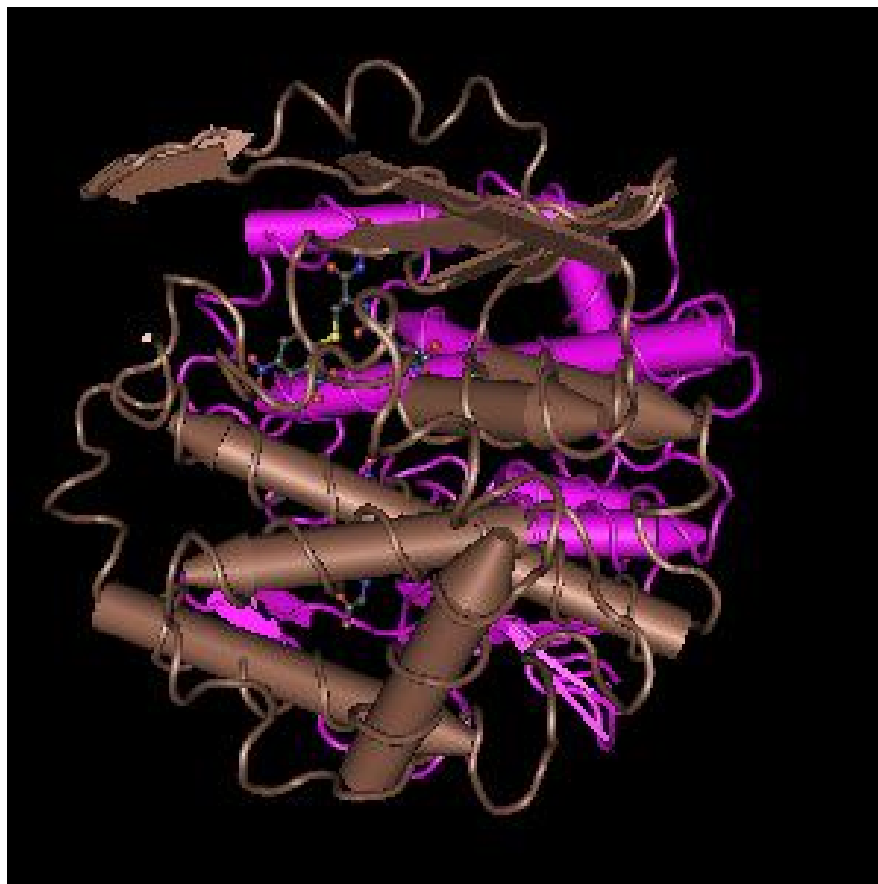


Figura 1 - Estrutura 3-D da Glutathione-S-transferase M1 humana (NCBI, 2013).

Tsai et al. (2004) evidenciaram em seus estudos que o genótipo nulo do *GSTM1* está associado a maior suscetibilidade a formação precoce do pterígio, embora não esteja associado ao pterígio tardio. Os autores sugeriram que o *GSTM1* tem maior importância na defesa antioxidante no surgimento da doença do que no metabolismo de xenobióticos (produtos de combustão incompleta de materiais orgânicos e largamente distribuídos no meio ambiente) (Young et al., 2010).

2.2 A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DA FAMÍLIA GST NO PTERÍGIO.

GSTM1 pertence a uma classe de enzimas envolvidas na detoxificação de carcinógenos e a deleção de ambos os alelos, ou seja, o genótipo nulo é comum em alguns tipos de populações; 50% da população caucasiana, por exemplo. O genótipo nulo é caracterizado por uma ausência total de atividade enzimática, o que confere um aumento na sensibilidade à luz UV e conseqüentemente a sua relação

com certas condições com características neoplásicas como o pterígio (Chui et al., 2008).

Os fatores hereditários assumem um importante papel no desenvolvimento do pterígio. Pacientes jovens com pterígio apresentam maior frequência do genótipo nulo. O genótipo nulo também tem sido associado à maior sensibilidade cutânea aos raios UV e desenvolvimento de câncer. As características da doença e as funções exercidas pelo *GSTM1* mostram a necessidade da avaliação desse gene frente à condição ocular; o *GSTM1* pode ser usado como marcador molecular no intuito de identificar pacientes de risco e elaborar medidas preventivas que contra o desenvolvimento pterígio (Di Irolamo et al., 2004).

2.3 AS FUNÇÕES REALIZADAS PELA *GSTM1* NORMAL

O gene *GSTM1* está localizado no cromossomo 1 (Figura 2). A família *GSTM1* quando regulada de forma normal protege a célula contra o estresse oxidativo, seja por inativação de lipídios peroxidados ou por detoxificação de xenobióticos que são co-fatores para a formação de radicais livres. Dessa forma assumem um papel primordial nos processos de biotransformação, também chamados de fase II da detoxificação de xenobióticos, conferindo proteção contra uma gama de compostos citotóxicos (Hayes et al., 2005).

A GST é uma família de enzimas intracelulares, elas atuam de forma a impedir a ação de toxinas tanto endógenas quanto exógenas nas células e tecidos; essa proteção resulta numa diminuição dos danos ao DNA. Essas enzimas também estão relacionadas ao metabolismo de várias substâncias carcinógenas, poluentes ambientais xenobióticos e drogas anticancerígenas (Tsai et al., 2004).

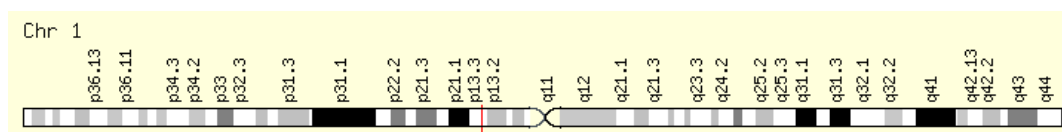


Figura 2: Localização genômica do gene *GSTM1*, evidenciado pela linha vermelha (Genecards, 2013).

Fonte: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1>

2.4 CONSEQUÊNCIAS DA PRESENÇA DE *GSTM1* MUTANTE

Dano cumulativo no DNA pode contribuir para certas patogêneses, de forma que pacientes com anomalias no reparo do DNA estão mais predispostos a desenvolver doenças com características neoplásicas. A deleção do *GSTM1*, que caracteriza o genótipo nulo, está associada à ausência de função enzimática e um aumento da vulnerabilidade a danos citogenéticos (TSAI et al., 2004).

O genótipo nulo do *GSTM1* tem sido associado a um maior risco de desenvolver pterígio. Está relacionado com a fotossensibilidade apresentada pelas células da córnea e a expressão do *GSTM1* é importante na proteção dessas células contra a ação de oxidantes. Portadores do genótipo nulo demonstram reações inflamatórias mais intensas após exposição à radiação UV, além de alta prevalência de câncer de pele (Tung et al., 2010).

Estudos genéticos compreendem um passo importante no entendimento da patogênese do pterígio. Marcadores genéticos são usados para identificar pacientes de risco e medidas preventivas que possam reduzir a probabilidade de desenvolver pterígio (WEISS et al., 2005).

Considerando a necessidade de investigar melhor a associação dos polimorfismos do *GSTM1* e a formação do pterígio, o presente trabalho teve o objetivo de analisar essa relação.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o polimorfismo do gene *GSTM1* em um grupo de pacientes com Pterígio e um grupo controle sem a doença na cidade de Goiânia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar o polimorfismo do gene *GSTM1* 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 *GSTM1* e os fatores de risco para a doença: sexo, etnia, casos na família, exposição ocupacional e fumo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA

Foram coletados em seringa heparinizada um volume de 10 mL de amostras de sangue periférico de pacientes com sinais e sintomas sugestivos de pterígio para análise molecular de DNA e verificação da presença ou ausência do polimorfismo *GSTM1*. As amostras coletadas foram divididas em dois grupos distintos, o grupo experimental formado por pacientes diagnosticados com pterígio e o grupo controle formado por pacientes sem a confirmação do pterígio. A coleta de sangue foi realizada na Fundação Banco de Olhos em Goiânia e a análise genética molecular foi realizada no Núcleo de Pesquisas Replicon-PUC-Goiás.

Todos os pacientes concordaram em responder a um questionário (presente no Anexo I) com dados referentes a nome, idade, etnia, hábitos de risco como fumo e ingestão de bebida alcoólica. O Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo II) foi assinado e os pacientes concordaram em participar da pesquisa.

4.2 ANÁLISE MOLECULAR

A partir do material biológico coletado, a extração do DNA foi realizada a partir das instruções do kit GFX™ (*Amersham, EUA*) de acordo com o protocolo para sangue total.

Tabela I - Protocolo referente à análise da presença ou ausência de polimorfismo do gene *GSTM1* por PCR.

REAGENTES	[] UTILIZADA	VOL. P/ 1 AMOSTRA
Tampão(10x)	1X	2,5 μ L
MgCl ₂ (50mM)	1,5 mM	1,5 μ L
dNTPs	1,25 mM de cada	1 μ L de cada = 4 μ L
Taq polimerase 5 U/ μ L	2,5 U/ μ L	0,2 μ L
Primer Fw	20 μ M	0,75 μ L
Primer Rev α	20 μ M	0,75 μ L
H ₂ O Mili Q	---	12,3 μ L
DNA amostra	300 ng/ μ L	3 μ L
Volume final		25 μL

A integridade do DNA foi certificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio (0,5mg/mL) e fotografado no Sistema de Vídeo Documentação VDS (*Amersham Biosciencs, USA*). As amostras de DNA foram submetidas à técnica de PCR (Tabela I), a fim de detectar a presença ou ausência do polimorfismo do gene *GSTM1* (Bergamaschi *et al.*,2004).

A tabela II mostra a sequência dos *primers* utilizados e o tamanho molecular correspondente a cada um deles.

Tabela II - Características moleculares dos primers usados para o gene *GSTM1*.

Primer	Sequência	Tamanho Molecular
GSTM 1	F: 5' GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3' R: 5' GTTGGGCTAAATATACGGTGG 3'	215pb

Núcleo de Pesquisas Replicon, 2014.

O protocolo utilizado para a ciclagem utilizada nesta amplificação está especificado na Tabela III.

Tabela III - Protocolo da ciclagem da PCR para o gene *GSTM1*.

	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Ciclos
Desnaturação	96°C	3	1
Amplificação cíclica	96°C 58°C 72°C	1 30 seg 3	35
Extensão final	72°C	7	1
Armazenamento	4°C		

Núcleo de Pesquisas Replicon, 2014.

O produto da PCR foi separado por eletroforese em gel de agarose a 2% e corado com brometo de etídio (10mg/mL) em solução tampão Tris-borato de EDTA (TBE) com PH 7,4. O gel foi submetido a um campo elétrico constante de 10 V/cm por um período de 1 hora e 30 minutos. O registro visual do gel foi feito através do sistema de vídeo-documentação (*Image Master VDS®* - Amersham Pharmacia Biotech, EUA). Todas as reações foram realizadas em duplicatas.

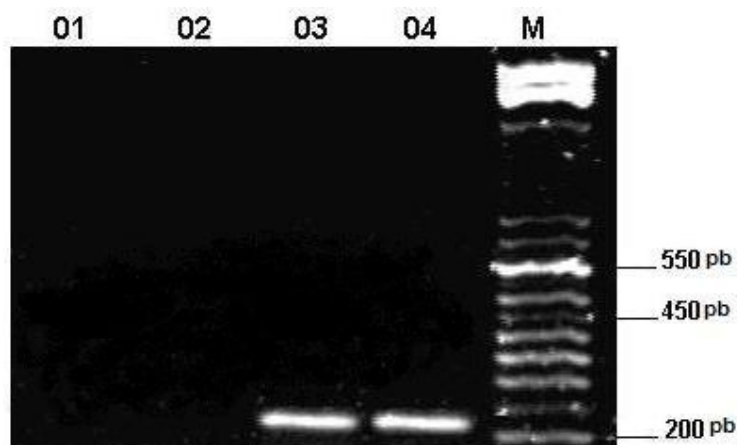


Figura 2: Gel de agarose a 2% mostrando a genotipagem do gene *GSTM1*. 01 e 02: *GSTM1* nulo; 03 e 04: *GSTM1* positivo; M: ladder (50 pb).

4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados do polimorfismo, tanto dos casos como dos controles, foram tabulados em planilhas do software Excel® (2003). Posteriormente o teste de fisher foi utilizado para verificação de possíveis associações entre a análise molecular e o

ptério. O programa BioEstat® 3.0 (Sociedade Civil Mamirauá / MCT-CNPq) foi utilizado para realização dos testes.

5. RESULTADOS

A distribuição do polimorfismo do gene *GSTM1* foi analisada no grupo caso (pacientes com pterígio) e no grupo controle (pacientes livre da doença) e pode ser observada na tabela IV. No grupo caso (n=90) foi constatado 17,6% (15/90) com a presença do gene *GSTM1* e 83,3% (75/90) com o genótipo polimórfico nulo. No grupo controle (n=23), foi detectado 43,5% (10/23) com o genótipo presente e 56,5% (13/23) com o genótipo polimórfico nulo. Os resultados obtidos mostram que há uma diferença estatisticamente significativa, $p=0,0056$.

Tabela IV – Distribuição do polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

	Presente		Nulo		P^a
	n	%	n	%	
Pterígio (n= 90)	15	16,7	75	83,3	0,0056
Controle (n= 23)	10	43,5	13	56,5	

^a Valor de P do teste Qui-Quadrado

A tabela V mostra a distribuição genotípica do gene *GSTM1* em relação ao gênero nos diferentes dois estudados. Na análise do polimorfismo do gene *GSTM1* nos indivíduos do sexo feminino do grupo caso foi detectado 20% (10/50) para o genótipo presente e 80% (40/50) para o polimorfismo nulo; enquanto que 33,3% (4/12) dos pacientes femininos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 66,7% (n=8/12) apresentam o genótipo nulo. Esse resultado não é considerado significativo, pois o valor de p é maior do que 0,05 ($p=0,2631$).

Analisando o polimorfismo do gene *GSTM1* para os pacientes do sexo masculino, 12,5% (5/40) do grupo caso apresentam o genótipo do gene *GSTM1* presente, enquanto 87,5% (35/40) apresentam o genótipo polimórfico nulo. No grupo controle 54,5% (6/11) dos pacientes apresentam o genótipo presente e 45,5% (5/11) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Diferente do resultado do polimorfismo do gene *GSTM1* para as mulheres, nos homens a diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,0071$).

Tabela V - Distribuição do polimorfismo *GSTM1* em relação ao sexo nos grupos caso e controle.

Sexo	Presente		Nulo		Total		P^a
	n	%	n	%	n	%	
Feminino							
Pterígio	10	20,0	40	80,0	50	100,0	0,2631
Controle	4	33,3	8	66,7	12	100,0	
Masculino							
Pterígio	5	12,5	35	87,5	40	100,0	0,0071
Controle	6	54,5	5	45,5	11	100,0	

^aValor P do Teste Exato de Fisher.

A tabela VI mostra a distribuição genotípica entre as etnias definidas pelos próprios pacientes: brancos, pardos e negros nos grupos estudados em relação ao gene *GSTM1*.

Tabela VI - Comparação da variável cor da pele com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

Grupos Variáveis	Caso		Controle		P^a
	n	%	n	%	
* Cor: Branca					0,0030
<i>GSTM1</i> -presente	6	12,0	8	50,0	
<i>GSTM1</i> -nulo	44	88,0	8	50,0	
Total	50	100,0	16	100,0	
* Cor: Parda					0,5538
<i>GSTM1</i> -presente	5	21,7	1	33,3	
<i>GSTM1</i> -nulo	18	78,3	2	66,7	
Total	23	100,0	3	100,0	
* Cor: Negra					0,6683
<i>GSTM1</i> -presente	4	23,5	1	25,0	
<i>GSTM1</i> -nulo	13	76,5	3	75,0	
Total	17	100,0	4	100,0	

^aValor P do Teste Exato de Fisher.

* Informado pelo paciente

Analisando o gene *GSTM1* nos indivíduos auto-denominados e, pertencentes ao grupo caso, brancos, 12% (6/50) apresentam genótipo presente e 88% (44/50) apresentam o genótipo nulo; 50% (8/16) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 50% (8/16) apresentam o genótipo nulo. Esse resultado é considerado estatisticamente significativo, $p=0,0030$.

Analisando o polimorfismo do gene *GSTM1* nos indivíduos auto-denominados pardos, 21,7% (5/23) indivíduos pertencente ao grupo caso apresentam o genótipo presente e 78,3% (18/23) desses indivíduos apresentam o genótipo polimórfico nulo, enquanto 33,3% (1/3) do grupo controle apresentam o genótipo presente e 66,7% (2/3) apresentam o genótipo polimórfico nulo. Indivíduos desta etnia não mostraram resultados com diferença estatisticamente significativa $p=0,5538$.

A análise do polimorfismo do gene *GSTM1* nos indivíduos negros detectou que 23,5% (4/17) dos indivíduos pertencentes ao grupo Pterígio apresentam genótipo normal e 76,5% (13/17) apresentam o genótipo nulo; enquanto 25% (1/4) dos indivíduos presentes no grupo controle apresentam o genótipo normal e 75% (3/4) apresentam o genótipo polimórfico nulo. A análise mostra que não há diferença estatisticamente significativa $p=0,6683$.

A tabela VII mostra a variável problema ocular na família com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos Caso e controle. Quando os pacientes com Pterígio apresentam casos de problema ocular na família, 17,9% (7/39) possuem o genótipo presente e 82,1% (32/39) possuem o polimorfismo nulo. Daqueles pacientes com Pterígio que nunca apresentam nenhum caso de anomalias oculares na família, 15,6% (5/32) possuem o genótipo presente e 84,4% (27/32) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,9601$).

Tabela VII - Comparação da variável problema ocular na família com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Problema ocular na família						
	Sim		Não		Não Sabe		<i>P</i> ^α
	n	%	n	%	n	%	
Pterígio							
Presente	7	17,9	5	15,6	3	15,8	
Nulo	32	82,1	27	84,4	16	84,2	0,9601
Total	39	100,0	32	100,0	19	100,0	
Controle							
Presente	5	35,7	2	50,0	3	60,0	
Nulo	9	64,3	2	50,0	2	40,0	0,6164
Total	14	100,0	4	100,0	5	100,0	

^α Valor *P* do Teste G

Dos pacientes do grupo controle que apresentam casos de anomalias oculares na família, 35,7% (5/14) possuem o genótipo presente e 64,3% (9/14) possuem o polimorfismo nulo. Dos pacientes do grupo controle que não apresentam nenhum caso de anomalias oculares na família, 50% (2/4) possuem o genótipo presente e 50% (2/4) apresentam o genótipo nulo para o *GSTM1*. Não há diferença estatisticamente significativa para essa análise ($p=0,6164$).

A tabela VIII analisa a exposição ocupacional com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com Pterígio que tiveram exposição ocupacional, 14,5% (9/62) possuem o genótipo presente e 85,5% (53/62) possuem o polimorfismo nulo para o gene *GSTM1*. Dos pacientes com Pterígio que não tiveram exposição ocupacional 21,4% (628) apresentam genótipo presente e 78,6% (21/28) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não mostra diferença estatisticamente significativa ($p=0,2991$; OR= 0,6226).

Tabela VIII - Comparação da variável exposição ocupacional com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Exposição ocupacional							
	Sim		Não		<i>P</i> ^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Pterígio								
Presente	9	14,5	6	21,4				
Nulo	53	85,5	22	78,6	0,2991	0,6226	0,1979	1,9593
Total	62	100,0	28	100,0				
Controle								
Presente	7	41,2	3	50,0				
Nulo	10	58,8	3	50,0	0,5368	0,7000	--	--
Total	17	100,0	6	100,0				

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

Dos pacientes do grupo controle submetidos exposição ocupacional, 41,2% (7/17) apresentam o genótipo presente do gene *GSTM1* e 58,8 (10/17) apresentam o polimorfismo nulo. Daqueles que não tiveram exposição ocupacional, 50% (3/6) possuem o genótipo presente para o *GSTM1* e 50% (3/6) apresentam o genótipo nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,7000$).

A tabela IX analisa a distribuição dos genótipos do gene *GSTM1* entre pacientes fumantes e pacientes não-fumantes nos grupos Caso e controle. Analisando o polimorfismo do gene *GSTM1* nos indivíduos que fazem uso do tabaco, 13% (3/23) dos indivíduos pertencentes ao grupo Caso apresentam genótipo presente e 87% (20/23) apresentam o genótipo nulo; enquanto 100% (2/2) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle fumam e apresentam o genótipo nulo. A diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,4288$ e $OR=0,6875$).

Tabela IX - Comparação da variável fumo com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Fumo							
	Sim		Não		P^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Pterígio								
Presente	3	13,0	12	17,9				
Nulo	20	87,0	55	82,1	0,4288	0,6875	0,1756	2,6914
Total	23	100,0	67	100,0				
Controle								
Presente	0	0,0	10	47,6				
Nulo	2	100,0	11	52,4	0,3083	0,0000	--	--
Total	2	100,0	21	100,0				

^a Valor P do Teste Exato de Fisher.

Analisando o polimorfismo *GSTM1* nos indivíduos não-fumantes, 17,9% (12/67) do grupo caso apresentam genótipo presente e 82,1% (55/67) apresentam o genótipo nulo; enquanto 47,6% (10/21) dos indivíduos pertencentes ao grupo controle apresentam o genótipo presente e 52,4% (11/21) apresentam o genótipo nulo. Esta diferença não é estatisticamente significativa ($p=0,3083$ e $OR=0,0000$).

Em relação o hábito de consumir bebida alcoólica, a tabela X mostra as diferenças desse parâmetro nos pacientes do grupo caso e do grupo controle com os polimorfismos dos genes *GSTM1*. Nos pacientes do grupo caso que apresentam o hábito de consumir bebida alcoólica foi observado que 10,5% (2/19) apresentam o gene *GSTM1*, ou seja, são normais e 89,5% (17/19) dos pacientes apresentaram *GSTM1*-nulo. No grupo controle 66,7% (2/3) dos pacientes que consomem álcool apresentam genótipo presente e 33,3% (1/3) apresentam *GSTM1*-nulo. O resultado não é considerado significativo ($p=0,3368$; $OR= 0,5249$).

Tabela X - Comparação da variável consumo de bebida alcoólica com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle.

Variáveis/ Grupos	Bebida Alcoólica							
	Sim		Não		<i>P</i> ^a	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Pterígio								
Presente	2	10,5	13	18,3				
Nulo	17	89,5	58	81,7	0,3368	0,5249	0,1077	2,5581
Total	19	100,0	71	100,0				
Controle								
Presente	2	66,7	8	40,0				
Nulo	1	33,3	12	60,0	0,3981	3,0000	--	--
Total	3	100,0	20	100,0				

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

Nos pacientes do grupo caso que não consomem nenhum tipo de bebida alcoólica, 18,3% (13/71) possuem genótipo presente e 81,7% (58/71) dos pacientes apresentaram *GSTM1*-nulo. No grupo controle os pacientes que não consomem bebida alcoólica são de 40% (8/20) com genótipo presente e 60% (12/20) dos pacientes com *GSTM1*-nulo, sendo esta diferença estatisticamente não significativa ($p=0,3981$; OR= 3,0000).

A tabela XI análise a variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com Pterígio que apresentam hipertensão, 20,5% (8/39) possuem o genótipo presente e 79,5% (31/39) possuem o genótipo *GSTM1*-nulo. Dos pacientes com Pterígio que não possuem hipertensão 13,7% (7/51) apresentam genótipo presente enquanto 86,3% (44/52) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente relevante ($p=0,2827$; OR=1,6221).

Tabela XI- Comparação da variável Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos pterígio e controle.

Variáveis/ Grupos	HAS							
	Sim		Não		P^{α}	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Pterígio								
Presente	8	20,5	7	13,7				
Nulo	31	79,5	44	86,3	0,2827	1,6221	0,5326	4,9401
Total	39	100,0	51	100,0				
Controle								
Presente	7	63,6	3	25,0				
Nulo	4	36,4	9	75,0	0,0736	5,2500	--	--
Total	11	100,0	12	100,0				

^{α} Valor P do Teste Exato de Fisher.

Dos pacientes do grupo controle que apresentam hipertensão, 63,7% (7/11) apresentam o genótipo presente enquanto 36,4% (4/11) apresentam o genótipo nulo para *GSTM1*. Dentre os pacientes do grupo controle que não possuem hipertensão, 25% (3/12) possuem o genótipo presente e 75% (9/12) apresentam o genótipo *GSTM1*-nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,0736$; $OR=5,2500$).

A tabela XII compara a variável Diabetes com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos caso e controle. Dos pacientes com Pterígio que apresentam Diabetes, 14,3% (3/21) possuem o genótipo presente e 85,7% (18/21) possuem o polimorfismo nulo para o gene *GSTM1*. Dos pacientes com Pterígio que não apresentam Diabetes 17,4% (12/69) apresentam genótipo presente enquanto 82,6% (57/69) possuem o polimorfismo nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,5165$; $OR=0,7917$).

Tabela XII - Comparação da variável Diabetes com o polimorfismo *GSTM1* nos grupos pterígio e controle.

Variáveis/ Grupos	Diabetes							
	Sim		Não		P^{α}	OR	Min	Max
	n	%	n	%				
Pterígio								
Presente	3	14,3	12	17,4				
Nulo	18	85,7	57	82,6	0,5165	0,7917	0,2008	3,1207
Total	21	100,0	69	100,0				
Controle								
Presente	4	50,0	6	40,0				
Nulo	4	50,0	9	60,0	0,4899	1,5000	0,2663	8,4488
Total	8	100,0	15	100,0				

^{α} Valor P do Teste Exato de Fisher.

Dos pacientes do grupo controle que tem diabetes, 50% (4/8) apresentam o genótipo presente enquanto 50% (4/8) apresentam o genótipo nulo. Daqueles que não apresentam diabetes, 40% (6/15) possuem o genótipo presente e 60% (9/15) apresentam o genótipo polimórfico nulo. O resultado não é estatisticamente significativo ($p=0,4899$; $OR=1,5000$).

6. DISCUSSÃO

A análise do polimorfismo do gene *GSTM1* para o grupo caso constatou que há diferença significativa entre o genótipo nulo do gene *GSTM1* entre os grupos caso e controle. Um estudo realizado com 127 pacientes corrobora os nossos resultados, eles perceberam que o genótipo nulo do gene *GSTM1* está relacionado com o aparecimento precoce de pterígio ($p=0,007$) (Tsai et al., 2004).

Entretanto, dois estudos distintos, uma da China (Young et al., 2010) e um de Taiwan (Tung et al., 2010) analisaram o polimorfismo do gene *GSTM1* em pacientes com pterígio e não encontraram diferenças significativas, não sendo compatível com os nossos resultados. A diferença nos resultados pode ser explicada pelas populações utilizadas nos referidos estudos. A população brasileira tem a miscigenação como característica, com raízes ancestrais na Europa, África e na América e diferentes padrões de migração (Suarez-Kurtz, et al., 2014). E no caso dos referidos estudos na China (Young et al., 2010) e em Taiwan (Tung et al., 2010), a população de origem asiática apresenta-se de forma mais homogênea.

No nosso estudo observamos que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* aumenta a possibilidade do aparecimento do pterígio ($p=0,0056$) no sexo masculino. No entanto não houve diferença significativa quando comparamos a prevalência do Pterígio mulheres no que diz respeito ao polimorfismo do gene *GSTM1*.

Um estudo conduzido na Austrália (Sherwin et al., 2013) mostrou que a frequência do genótipo nulo do *GSTM1* é maior na população masculina daquele país, resultado que corrobora o detectado em nossos resultados. Outros estudos também corroboram o nosso, um realizado em Beijing mostrou que naquela população o pterígio é mais freqüente no sexo masculino (Ma et al., 2007) e outro realizado na Etiópia (Meseret et al., 2008). Entretanto um grupo de pacientes chineses analisados quanto ao polimorfismo nulo do *GSTM1* não encontrou diferença significativa no sexo masculino e feminino (Young et al., 2010). A diferença no resultado pode ser explicada pela população utilizada em cada estudo considerado. Enquanto a população brasileira é marcada pela miscigenação (Suarez-Kurtz, et al., 2014), a população australiana é majoritariamente descendente de europeus (Sherwin et al., 2013), a população de Beijing tem origem asiática (Ma et

al., 2007) e a população da Etiópia com a maioria de origem semítica (Meseret et al., 2008).

Estudos realizados em Barbados (Luthra et al., 2001) também evidenciam que a etnia pode estar relacionada com a prevalência da doença. Eles analisaram 4709 pacientes e perceberam que a prevalência do pterígio naquele país está relacionado com a população negra e que essa etnia representada no estudo tinha cerca de 2,5 a 3,0 vezes mais frequência no aparecimento do Pterígio do que o restante da população. Um grupo de pesquisadores da Espanha mostrou que a prevalência do pterígio é maior nos caucasianos corroborando os nossos resultados (Viso et al., 2011).

No presente estudo observamos que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio em pacientes que tiveram anomalias oculares na família. Não houve diferença significativa nessa análise, $p=0,9601$.

Ao contrário dos nossos resultados, um estudo na África (Anguria et al., 2012) mostrou que casos de Pterígio na família pode sim contribuir para aumentar a frequência da doença nas gerações seguintes. Diferenças nos resultados se devem às diferentes populações estudadas. Enquanto a população brasileira apresenta descendência múltipla (Suarez-Kurtz, et al., 2014), o que leva a uma maior heterogeneidade genética, a população estudada na África é mais homogênea em relação às suas características genéticas (Anguria et al., 2012).

Observamos que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio quando há exposição ocupacional ($p=0,2991$).

Um estudo realizado na Malásia (Cajucum-uy et al., 2010) corrobora os nossos resultados. Eles não encontraram diferenças significativas quando compararam o pterígio e a exposição ocupacional naquela população.

O grupo de pesquisa de Barbados (Luthra et al., 2001) mostrou resultados que indicam que a exposição ocupacional (principalmente daqueles que não usam óculos de proteção solar) promove duas vezes mais chance de desenvolver a doença. Afirmam ainda que é muito importante investir em programas de prevenção que estimulem as pessoas que trabalham expostas ao sol de usarem esse tipo de equipamento na tentativa de diminuir a chance de desenvolvimento do pterígio (Luthra et al., 2001). As diferenças nos resultados podem ser explicadas por causa

das diferenças nas amostragens usada pelos grupos de estudo. O tamanho da amostra do grupo de Barbados foi consideravelmente maior do que a usada no presente trabalho, sendo que as análises daquele grupo foram realizadas sob um tamanho amostral de 2781

Nossa pesquisa mostrou que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio quando o paciente faz uso frequente do cigarro ($p=0,4288$).

Um grupo de cientista da Índia (Asokan et al., 2012) avaliou o efeito do cigarro em relação ao pterígio. Nem o referido grupo, nem o nosso trabalho encontrou diferenças estatisticamente significativa para esse parâmetro. O estudo realizado por eles corrobora os nossos resultados. Um estudo realizado com latinos que vivem nos Estados Unidos também não encontrou diferenças significativas em relação ao aparecimento do pterígio e o consumo de tabaco (West e Muñoz, 2009)

Observamos que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio quando o paciente apresenta hipertensão ($p=0,2827$).

Um estudo realizado na China (Zhao et al., 2013) acompanhou por 10 anos 4439 pacientes. Eles afirmam que não há relação do aparecimento da doença com parâmetros como a hipertensão e aspectos cognitivos (não avaliado no presente trabalho), estão de acordo com os nossos resultados.

No presente estudo observamos que a presença do genótipo nulo do gene *GSTM1* não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio quando o paciente apresenta diabetes ($p=0,5165$), e também, não aumenta a possibilidade do desenvolvimento do pterígio quando o paciente faz uso de bebidas alcoólicas ($p=0,3368$)

Outro grupo de estudo da China (Zhong et al., 2012) analisou diversos parâmetros do aparecimento e desenvolvimento do Pterígio. Assim como o presente trabalho eles não encontraram diferenças significativas a cerca dos seguintes parâmetros: altura e peso (não avaliadas pelo nosso grupo), hipertensão, uso do álcool, fumantes e diabetes.

7. CONCLUSÃO

A análise do polimorfismo do gene *GSTM1* para o grupo caso constatou que há diferença significativa entre o genótipo nulo do gene *GSTM1* nos grupos caso e controle.

O genótipo *GSTM1* nulo é o mais frequente na população estudada;

O genótipo nulo do gene *GSTM1* é significativo na população masculina, mas não na feminina.

O genótipo nulo do gene *GSTM1* é significativo na etnia branca, mas não na parda ou negra.

O genótipo nulo do gene *GSTM1* não está relacionado aos fatores de risco analisados:

- Casos na família
- Exposição ocupacional
- Fumo
- HAS
- DM

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASOKAN R, VENKATASUBBU RS, VELUMURI L, LINGAM V, GEORGE R. **Prevalence and associated factors for pterygium and pinguecula in a South Indian population.** *Ophthalmic Physiol Opt.* 2012 Jan;32(1):39-44.

ANGURIA P, NTULI S, INTEREWICZ B, CARMICHAEL T. **Traditional eye medication and pterygium occurrence in Limpopo Province.** *S Afr Med J.* 2012 Jun 28;102(8):687-90.

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 JC, YANG W, BRADLEY RH, REID TW, SCHWAB IR. **The science of pterygia.** *Br J Ophthalmol.* 2010;94:815-20.

CAJUCOM-UY H, TONG L, WONG TY, TAY WT, SAW SM. **The prevalence of and risk factors for pterygium in an urban Malay population: the Singapore Malay Eye Study (SiMES).** *Br J Ophthalmol.* 2010;94(8):977.

CHALKIA, AK; SPANDIDOS, DA; DETORAKIS, ET. **Viral involvement in the pathogenesis and clinical features of ophthalmic pterygium.** *Int J Mol Med.* 2013 Sep;32(3):539-43.

CHEN, F.; WANG, W.; EL-DEIRY, W. S. **Current strategies to target p53 in cancer.** *Biochemical Pharmacology*, Oxford, v. 80, p. 724-730, 2010.

CHEN, K. H.; HSU, W. M.; CHENG, C. C.; LI, Y. S. **Lack of human papillomavirus in pterygium of chinese patients from Taiwan.** *British Journal of Ophthalmology*, v. 87, n. 8, p. 1046–1048, 2003.

CHOWERS, I.; PE'ER, J.; ZAMIR, E.; LIVNI, N.; ILSAR, M.; FRUCHT-PERY, J. **Proliferative activity and p53 expression in primary and recurrent pterygia.** *Ophthalmology*, Philadelphia, v. 108, p. 985–988, 2001.

CHUI J, Di GIROLAMO N, WAKEFIELD D, CORONEO MT, **The pathogenesis of pterygium: current concepts and their therapeutic implications,** *Ocul Surf*, 2008, 6(1):24–43.

DETORAKIS ET, SOURVINOS G and SPANDIDOS DA: **Detection of herpes simplex virus and human papilloma virus in ophthalmic pterygium.** *Cornea* 20: 164-167, 2001.

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.

DUSHKU, N.; HATCHER, S. L.; ALBERT, D. M.; REID, T. W. **p53 expression and relation to human papillomavirus infection in pingueculae, pterygia, and limbal tumors.** *Archives of Ophthalmology*, v. 117, n. 12, p. 1593–1599, 1999.

EVEREKLIOĞLU C, Er H, DOĞANAY S, CEKMEN M, TÜRKOZ Y, OTLU B, ÖZEROL E. **Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration.** *Doc Ophthalmol* 2003; 106:129-36.

GALLAGHER MJ, GIANNOUDIS A, HERRINGTON CS, HISCOTT P: **Human papillomavirus in pterygium.** *Br J Ophthalmol* 85:782-784, 2001.

GOLU T, MOGOANTA L, STREBA CT, PIRICI DN, MALAESCU D, MATEESCU GO, MUTIU G, **Pterygium: histological and immunohistochemical aspects.** *Rom J Morphol Embryol* 2011, 52(1):153–158.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. **Glutathione transferases.** *Annual Review Pharmacology and Toxicology*, Palo Alto, v. 45, p.51-88, 2005.

Jaworski CJ, Aryankalayil-John M, Campos MM, Fariss RN, Rowsey J, Agarwalla N, Reid TW, Dushku N, Cox CA, Carper D, Wistow G. **Expression analysis of human pterygium shows a predominance of conjunctival and limbal markers and genes associated with cell migration.** *Mol Vis.* 2009 Nov 20;15:2421-34.

KASE S, OSAKI M, JIN XH, OHGAMI K, YOSHIDA K, SAITO W, TAKAHASHI S, NAKANISHI K, ITO H, Ohno S. **Increased expression of erythropoietin receptor in human pterygial tissues.** *Int J Mol Med* 2007; 20:699-702.

KAU, H. C.; TSAI, C. C.; LEE, C. F.; KAO, S. C.; HSU, W. M.; LIU, J. H.; WEI, Y. H. **Increased oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in human pterygium.** *Eye*, London, v. 20, p. 826-31, 2006.

LAI TJ, TSAI YY, CHENG YW, CHIANG CC, LEE H, CHOU MC, CHANG JH. **An association between BPDE-like DNA adducts levels and P53 gene mutation in pterygium.** Mol Vis. 2006; 12:1687-91.

LIANG K, JIANG Z, DING B, CHENG P, HUANG D, TAO L, **Expression of cell proliferation and apoptosis biomarkers in pterygia and normal conjunctiva** Molecular Vision 2011; 17:1687-1693.

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

Ma K, Xu L, Jie Y, Jonas JB. **Prevalence of and factors associated with pterygium in adult Chinese: the Beijing Eye Study.** Cornea. 2007;26(10):1184.

MESERET, A.; BEJIGA, A.; AYALEW, M. **Prevalence of Pterygium in a rural community of Meskan District, Southern Ethiopia.** Ethiop j Health Dev. 2008;22(2).

NOVAES P, DO NASCIMENTO Saldiva PH, KARA-JOSÉ N, MACCHIONE M, MATSUDA M, RACCA L, BERRA A, **Ambient levels of air pollution induce goblet-cell hyperplasia in human conjunctival epithelium,** Environ Health Perspect, 2007, 115(12):1753–1756.

PERRA, M. T.; MAXIA, C.; CORBU, A.; MINERBA, L.; DEMURTAS, P.; COLOMBARI, R.; MURTAS, D.; BRAVO, S.; PIRAS, F.; SIRIGU, P. **Oxidative stress in pterygium: relationship between p53 and 8-hydroxydeoxyguanosine.** Molecular Vision, Atlanta, v. 12, p. 1136-1142, 2006.

SAID T, DUTOT M, MARTIN C, BEAUDEUX JL, BOUCHER C, ENEE E, BAUDOUIIN C, WARNET JM and RAT P: **Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress: role of new biological UV filter.** Eur J Pharm Sci 30: 203-210, 2007.

SHERWIN JC1, HEWITT AW, KEARNS LS, GRIFFITHS LR, MACKAY DA, CORONEO MT. **The association between pterygium and conjunctival ultraviolet autofluorescence: the Norfolk Island Eye Study.** Acta Ophthalmol. 2013 Jun;91(4):363-70.

SCHNEIDER BG, JOHN-ARYANKALAYIL M, ROWSEY JJ, DUSHKU N, REID TW. **Accumulation of p53 protein in pterygia is not accompanied by TP53 gene mutation.** Exp Eye Res 2006; 82:91-8.

SCIANNI, L et al. **Polymorphisms GSTM1 and GSTT1 and sporadic breast cancer mammographic features.** Revista da Associação Médica Brasileira, v.54, p. 61-66, 2008

SEIFERT, P., ECKERT, J., SPITZNAS, M. **Topological-histological investigation of the pterygium.** Graefes Archives for Clinical Experimental Ophthalmology, Berlim, v. 239, p. 288–293, 2001.

SEKUNDO W, DROUTSAS K, CURSIEFEN C. **Operative techniques for surgical treatment of primary and recurrent pterygia.** Ophthalmologe. 2010; 107:525-8.

SHIROMA H, HIGA A, SAWAGUCHI S, IWASE A, TOMIDOKORO A, AMANO S, ARAIE M, **Prevalence and risk factors of pterygium in a southwestern island of Japan: the Kumejima Study,** Am J Ophthalmol, 2009, 148(5):766–771.e1.

SOLOMON AS. Pterygium. Br J Ophthalmol 2006; 90:665-6.

SOLOZOBOV, V et al. Regulation of p53 in embryonic stem cells. **Experimental Cell Research**, New York, v. 316, p. 2434-2446, 2010.

Suarez-Kurtz G; Vargens DD; Santoro AB, Hutz MH et al. **Global Pharmacogenomics: Distribution of CYP3A5 Polymorphisms and Phenotypes in the Brazilian Population.** Pone, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0083472

TSAI, Y. Y.; CHENG, Y. W.; LEE, H.; TSAI, F. J.; TSENG, S. H.; CHANG, K. C. **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, Y. Y.; LEE, H.; TSENG, S. H.; CHENG, Y. W.; TSAI, C. H.; WU, Y. H.; TSAI, F. J. **Null type of glutathione S-transferase M1 polymorphism is associated with early onset pterygium.** Molecular Vision, Atlanta, v. 10, p. 458-461, 2004.

TUNG JN, WU HH, CHIANG CC, TSAI YY, CHOU MC, LEE H, CHENG YW. **An association between BPDE-like DNA adduct levels and CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in pterygium.** Mol Vis. 2010; 16:623-9.

WEINSTEIN, O.; ROSENTHAL, G.; ZIRKIN, H.; MONOS, T. LIFSHITZ, T.; ARGOV, S. **Overexpression of p53 tumor suppressor gene in pterygia.** Eye, London, v. 16, p. 619-621, 2002.

WEISS JM, GOODE EL, LADIGES WC, ULRICH CM. **Polymorphic variation in hOGG1 and risk of cancer: a review of the functional and epidemiologic literature.** Mol Carcinog 2005;42:127-41.

West S; Muñoz B. **Prevalence of pterygium in Latinos: Proyecto VER.** Br J Ophthalmol. 2009 Oct;93(10):1287-90.

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.

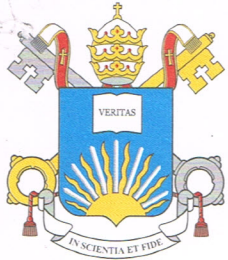
YOUNG, C. H.; LO, Y. L.; TSAI, Y. Y.; SHIH, T. S.; LEE, H.; CHENG, Y. W. **CYP1A1 gene polymorphisms as a risk factor for pterygium.** Molecular Vision, Atlanta, v. 16, p. 1054-1058, 2010.

ZHAO L, YOU QS, XU L, MA K, WANG YX, YANG H, JONAS JB. **10-year incidence and associations of pterygium in adult Chinese: the Beijing Eye Study.** Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013 Feb 27;54(2):1509-14.

ZHONG H1, CHA X, WEI T, LIN X, LI X, Li J, CAI N, LI J, SU X, YANG Y, YU M, YUAN Y. **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.

Angstrom Resolution Crystal Structure of Human Glutathione S-transferase M1a-1a Complexed With Glutathionyl-s-dinitrobenzene.

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=31666>> Acessado em 15 de Outubro de 2013 às 22:00 horas.



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA**

**ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE
CONCLUSÃO DE CURSO DE MESTRADO**

1 No dia 18 de junho de 2014, reuniu-se a 93ª Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado, composta
2 pelos membros: Profa. Dra. Kátia Karina Verolli de O. Moura / PUC Goiás (Presidente), Prof. Dr. Paulo
3 Roberto de Melo Reis / PUC Goiás, Profa. Dra. Luciana Barbosa Carneiro / UFG, para avaliação da
4 dissertação intitulada "Análise do polimorfismo do gene GSTM1 em amostras de pterigio em
5 Goiânia", do candidato Anicézio de Paula Ribeiro Junior, aluno do Mestrado em Genética (MGene)
6 da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. A sessão iniciou-se às 14h00min., na Sala de Defesa
7 de Teses, da área IV, sob a presidência da Profa. Dra. Kátia Karina Verolli de O Moura, que concedeu
8 30 minutos ao candidato para expor sinteticamente o estudo. A seguir, a arguição procedeu-se de forma
9 interativa. Ao final da defesa, a sessão foi suspensa e a Comissão se reuniu em separado para avaliação e
10 atribuição de nota. Discutido o trabalho e o desempenho do mestrando, a Banca Examinadora
11 considerou-o Aprovado com a nota 10,0 (dez inteiros)
12 equivalente ao conceito "A". Portanto, o discente foi declarado **Mestre em Genética pela Pontifícia**
13 **Universidade Católica de Goiás**, pelo Presidente da Banca Examinadora, que encerrou a sessão
14 às 15h10min. Não havendo nada mais a tratar, a presente ata foi lavrada e assinada pelos membros
15 da Banca Examinadora.

16 Profa. Dra. Kátia Karina Verolli de O Moura _____

17 Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis _____

18 Profa. Dra. Luciana Barbosa Carneiro _____

19 Esta ata contém 19 linhas contínuas, sem rasuras, emendas ou retificação.



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 93/2014

MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: ANICÉZIO RIBEIRO DE PAULA JUNIOR

DEFENDIDA EM 18 DE JUNHO DE 2014 E APROVADO COM CONCEITO A.....

O título foi alterado não () sim _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura
(presidente-orientador)

Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis / PUC Goiás
(membro interno)

Prof. Dra. Luciana Barbosa Carneiro / UFG
(membro externo)