

Avaliação da glutathione S-transferase M1 (GSTM1) e seu polimorfismo GSTM1 nulo na resposta ao tratamento com quimioterapia do câncer avançado de ovário

Assessment of glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and its polymorphisms GSTM1 null in the response to treatment with chemotherapy in advanced ovarian carcinoma

Gilberto Kendi Takeda¹, Daniela Batista Leite², Michele Gilvana Junqueira², Luiz Augusto Freire Lopes³, Ismael Dale Cotrim Guerreiro da Silva⁴, Fausto Farah Baracat⁵

RESUMO

Objetivo: Avaliar se o genótipo da enzima glutathione S-transferase M1 (GSTM1) e seu polimorfismo GSTM1 nulo podem influenciar na resposta ao tratamento quimioterápico do câncer avançado de ovário. **Métodos:** Estudo caso-controle de 112 pacientes portadoras de câncer avançado de ovário, submetidas a tratamento por quimioterapia no período de Janeiro de 1995 a Dezembro de 2005. O tecido para estudo do genótipo da GSTM1 e sua deleção foram provenientes do estadiamento cirúrgico para tratamento do câncer de ovário. O produto do PCR gera dois genótipos distintos, sendo caracterizado como positivo e nulo. A resposta à quimioterapia foi avaliada usando os critérios da Organização Mundial da Saúde. As pacientes foram classificadas em: a) sem resposta, b) com resposta. **Resultados:** A presença da GSTM1 ou seu polimorfismo GSTM1 nulo não influenciou na resposta à quimioterapia pré-operatória. Dentre as pacientes que responderam 88,9% apresentavam GSTM1 e 11,1% GSTM1 nulo. Dentre as pacientes que não responderam 85,71% apresentavam GSTM1 e 14,29% GSTM1 nulo ($p = 0,825$). A GSTM1 e seu polimorfismo GSTM1 nulo não tiveram influência na resposta à quimioterapia pós-operatória. Dentre as pacientes que responderam 80,65% apresentavam GSTM1 e 19,35% nulo. Dentre as pacientes que não responderam, 87,50% apresentavam GSTM1 e 12,5% nulo ($p = 0,553$). **Conclusão:** Não foi observada diferença na resposta ao tratamento com quimioterapia em pacientes com câncer avançado de ovário, em relação ao genótipo GSTM1 comparado ao seu polimorfismo GSTM1 nulo.

Descritores: Neoplasias ovarianas/quimioterapia; Polimorfismo genético; Glutathione transferase

ABSTRACT

Objective: To assess if the genotype of the glutathione S-transferase M1 (GSTM1) enzyme and its GSTM1 null polymorphism can influence the response to chemotherapeutic treatment of advanced ovarian cancer. **Methods:** Case-control study of 112 patients with advanced ovarian cancer submitted to chemotherapy during the period from January 1995 to December 2005. The tissue to study the GSTM1 genotype and its deletion came from surgical staging to treat ovarian cancer. The PCR product generates two distinct genotypes, characterized as positive and null. The response to chemotherapy was evaluated using the World Health Organization (WHO) criteria. Patients were classified as having: a) no response, b) a response. **Results:** The presence of GSTM1 or its GSTM1 null polymorphism did not influence the preoperative chemotherapy response. Among the patients who did respond, 88.9% presented with positive GSTM1 and 11.1% with null GSTM1. Among the patients that did not respond, 85.71% presented with positive GSTM1 and 14.29% with null GSTM1 ($p = 0.825$). GSTM1 and its GSTM1 null polymorphism had no influence on the postoperative response to chemotherapy. Among the patients who did respond, 80.65% presented with positive GSTM1 and 19.35% with null GSTM1. Among the patients who did not respond, 87.50% presented with positive GSTM1 and 12.5% with

Trabalho realizado no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" - HSPE-FMO, São Paulo (SP), Brasil. Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - São Paulo (SP), Brasil.

¹ Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" - HSPE-FMO, São Paulo (SP), Brasil.

² Laboratório de Ginecologia Molecular, Departamento de Ginecologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

³ Setor de Oncologia Pélvica, Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" - UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Departamento de Ginecologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil; Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" - HSPE-FMO, São Paulo (SP), Brasil.

⁵ Seção de Ginecologia, Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" - HSPE-FMO, São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: Gilberto Kendi Takeda - Hospital do Servidor Público Estadual, Rua Pedro de Toledo, 1800, 4º andar, Ginecologia - Vila Clementino - CEP 04039-901 - São Paulo (SP) - Brasil - Tel.: (11) 5088-8501 - E-mail: gktakeda@uol.com.br

Data de submissão: 2/9/2010 - Data de aceite: 9/8/2011

Conflito de interesse: não há

the null polymorphism ($p = 0.553$). **Conclusion:** No difference was observed in the response to treatment with chemotherapy in patients with advanced ovarian cancer, as to the GSTM1 genotype compared to its GSTM1 null polymorphism.

Keywords: Ovarian neoplasms/drug therapy; Polymorphism, genetic; Glutathione transferase

INTRODUÇÃO

Nos Estados Unidos, foram estimados, para 2010, 21.880 casos novos de câncer de ovário com 13.850 óbitos, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA)^(1,2). No Brasil, segundo dados divulgados pelo INCA, foram estimados 3.837 casos novos de câncer de ovário para o ano de 2009. O número de mortes por câncer de ovário em 2008 foi estimado em 2.836. O INCA coloca as neoplasias de ovário entre as de baixa incidência. Estima-se que, no Brasil, corresponda a cerca de 2 a 3% dos cânceres femininos⁽³⁾.

O câncer de ovário é o mais letal dentre os tumores malignos ginecológicos, sendo assintomático e de difícil detecção nos estádios iniciais. Aproximadamente 62% são diagnosticados quando a doença já está disseminada, e a sobrevida de 5 anos é de apenas 27,6%⁽⁴⁾.

O tratamento padrão para o câncer de ovário consiste na remoção cirúrgica (citorredução) completa do tumor seguido de quimioterapia sistêmica baseada na platina. Numerosos estudos provam que o volume do tumor residual tem grande impacto no prognóstico das pacientes. O uso da quimioterapia pré-operatória foi proposta no intuito de aumentar o número de pacientes que se beneficiarão com a citorredução completa, além de diminuir a morbidade e a mortalidade associadas a cirurgias maiores⁽⁵⁾. A citorredução completa é o principal fator na sobrevida das pacientes seguida da citorredução ótima, na qual se deixa menos de 1cm no diâmetro máximo tumoral, porém isto nem sempre é possível. Quando se deixa de 1 a 2cm (citorredução subótima) ou mais de 2cm de tumor residual, não há impacto na sobrevida das pacientes e, nestes casos, opta-se por realizar a quimioterapia pré-operatória seguida da cirurgia, na qual se procura realizar a remoção completa do tumor^(6,7). O esquema de quimioterapia padrão utilizado após a citorredução primária é a combinação da cisplatina com a ciclofosfamida e, para a quimioterapia pré-operatória, é a combinação da cisplatina e o paclitaxel^(8,9). Uma das estratégias para se conseguir uma melhor sobrevida dessas pacientes seria a escolha de uma droga quimioterápica eficaz no tratamento. As características genéticas podem

contribuir para prever a resposta ao tratamento quimioterápico⁽¹⁰⁾.

A glutatona S-transferase (GST) pode agir catalisando a inativação dos quimioterápicos por sua conjugação com a glutatona (GSH), o antioxidante mais abundante no compartimento intracelular⁽¹¹⁾.

A glutatona S-transferase *mu-1* (GSTM1) é um membro polimorfo do gene da classe *mu* da família da GST. O alelo GSTM1 nulo é o resultado da deleção de 15 quilobases (Kb), e este não apresenta atividade da GSTM1⁽¹²⁾.

A resistência à quimioterapia representa uma das causas mais importantes na falha do tratamento de pacientes com câncer de ovário. Há evidências de que indivíduos portadores do gene polimórfico GSTM1 nulo podem ter maior sobrevida⁽¹³⁾.

OBJETIVO

Avaliar se o genótipo da GSTM1 e o seu polimorfismo GSTM1 nulo podem influir na resposta ao tratamento quimioterápico.

MÉTODOS

Foi feito estudo retrospectivo de caso-controle de 112 pacientes portadoras de câncer avançado de ovário do tipo epitelial, que necessitaram de tratamento quimioterápico no período de Janeiro de 1995 a Dezembro de 2005 no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HSPE-FMO. Este trabalho recebeu a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (nº 0121/06).

O material para estudo do genótipo da GSTM1 e sua deleção foi obtido do arquivo do Serviço da Anatomia Patológica do Hospital Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" (HSPE-FMO). Foram feitos dez cortes de um micron, em blocos de peças parafinadas, obtidas para estadiamento cirúrgico do câncer de ovário. O estudo do genótipo da GSTM1 e sua deleção foram feitos no Laboratório de Ginecologia Molecular do Departamento de Ginecologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). O tecido foi desparafinado e o ácido desoxirribonucleico (DNA) foi extraído segundo protocolo do *kit* (Qiagen, Chatworth, CA). Foram realizadas reações em cadeia da polimerase (PCR) para análise do polimorfismo da GSTM1.

As reações foram processadas em um volume final de 25 mL contendo 1 mL de cada *primer* (iniciador, oligonucleotídeo) (10 pmol/mL), 2 mL de DNA genômico (100 ng/mL), 10 mL de PCR Master Mix (Promega, Madison, USA) (50 U/mL Taq DNA Poli-

merase, 400 mM dNTP, 3 mM MgCl₂) e 12mL de água destilada. As reações foram incubadas em termociclador (GeneAmp PCR System 9700-Perkin Elmer) nas seguintes condições: na primeira etapa do ciclo (desnaturação), a temperatura é elevada a 95°C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos a 94°C por 60 segundos; na segunda etapa (anelamento), a temperatura é reduzida a 55°C por 60 segundos; e, na última etapa, do ciclo (extensão da fita do DNA) a temperatura é elevada a 72°C por 60 segundos, findando com incubação a 72°C por 10 minutos.

Os produtos das reações foram analisados em gel de agarose 2% (Amersham Pharmacia Biotech), corado com brometo de etídeo.

Devido ao polimorfismo da GSTM1 poder apresentar deleção homozigótica para os dois alelos, foi necessária a utilização de um segundo iniciador, com intuito de se obterem controles internos indicativos da presença de DNA, bem como a integridade dos reagentes utilizados. Portanto, foi adicionado um par de oligonucleotídeos de um gene constitucional (beta-globina) nas reações de PCR.

Os iniciadores alelo-específicos utilizados foram a GSTM1 – 215 pares de base (1 direto (*sense*): 5' – GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C – 3' e 2 reversos (*antisense*): 5' – GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G – 3') e a beta-globina – 268 pares de base (1 direto (*sense*): 5' – CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC – 3' e 2 reversos (*antisense*): 5' – GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC – 3')⁽¹⁴⁾.

O produto da PCR gera dois genótipos distintos, nos quais a presença das bandas de 268 pb e 215 pb evidencia que a paciente possui o gene da GSTM1, sendo caracterizado como positivo (+/+). Quando se observa apenas a banda de 268 pb, correspondente à beta-globina, conclui-se que o GSTM1 não está presente, sendo denominado de nulo (-/-).

A resposta à quimioterapia foi determinada pelos níveis plasmáticos de CA 125 e/ou resposta clínica usando os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS). As pacientes foram classificadas como sem resposta à quimioterapia quando houve progressão ou doença estável⁽¹⁵⁾.

Foi considerada resposta ao tratamento se esta foi completa ou parcial e manteve-se por pelo menos 4 semanas.

Para comparação da distribuição da variável “idade”, foi utilizado o teste *t*, com resultado expresso em média, mínimo e máximo. Quanto à raça, exame físico, tipo histológico, estadiamento cirúrgico, quimioterapia pré e pós-operatória e GSTM1 presente e nulo, utilizou-se o teste de proporção simples, com valores expressos em porcentagem.

Todas as informações e resultados foram analisados utilizando o *software* estatístico *Statistical Pa-*

ckage for the Social Sciences (SPSS) 15.0 para Windows, com cálculo descritivo de média e desvio-padrão para variáveis quantitativas, e de frequência para variáveis qualitativas. A análise categórica foi feita por meio do teste do χ^2 ou exato de Fischer (quando variável < 5). A significância estatística foi estabelecida como $p < 0,05$. As variáveis incluídas foram polimorfismo do GST (presente ou nulo), resposta à quimioterapia pré-operatória (sim ou não) e resposta à quimioterapia pós-operatória (sim ou não). Foram feitas tabulações cruzadas entre o polimorfismo do GST *versus* resposta à quimioterapia pré-operatória e entre o polimorfismo do GST *versus* resposta à quimioterapia pós-operatória.

RESULTADOS

A idade das pacientes variou de 18 a 86 anos, com média de 58,34.

A raça branca foi a mais frequente (92%), seguida da parda e negra com 4% cada.

Os achados no exame físico foram tumor abdominal (79,4%), ascite (13,2%) e normal (7,4%).

Os tipos histológicos encontrados foram carcinoma seroso (66%), carcinoma SOE (19%), carcinoma mucinoso (10%), carcinoma endometriode (3,5%) e tumor de Brenner (1,5%) dos casos.

Os estadiamentos cirúrgicos mais frequentemente encontrados foram IIIC (61,6%) e IC (17%) (Tabela 1).

Tabela 1. Estadiamento cirúrgico

Variáveis	n	%
Estádio I A/B	8	7,1
Estádio IC	19	17
Estádio II A/B	8	7,1
Estádio II C	1	0,9
Estádio III A/B	2	1,8
Estádio III C	69	61,6
Estádio IV	5	4,5

A quimioterapia pré-operatória foi realizada em 42 pacientes (37,5% dos casos), sendo que em 22 (52,4%) com resposta e em 20 (47,6%) sem resposta.

A quimioterapia pós-operatória foi realizada em 91 pacientes (81,3% dos casos), sendo em 58 (63,7%) com resposta e em 33 (36,3%) sem resposta.

A GSTM1 foi encontrada em 60 pacientes (53,6% dos casos), sendo nulo em 9 (15%) e presente em 51 (85%).

Dentre as pacientes que responderam à quimioterapia pré-operatória, 11,1% apresentavam GSTM1 nulo e 88,9% GSTM1 presente. Dentre as pacientes que não

responderam à quimioterapia pré-operatória, 14,29% apresentavam GSTM1 nulo e 85,71% GSTM1 presente ($p=0,825$) (Tabela 2).

Tabela 2. Resposta à quimioterapia pré operatória em relação ao GSTM1 e seu polimorfismo GSTM1 nulo

Resposta à QT pré operatória	GSTM1 nulo (%)	GSTM1 (%)	Total
Não	2 (14,29)	12 (85,71)	14
Sim	1 (11,1)	8 (88,9)	9
Total	3	20	23

Para análise estatística, χ^2 de Pearson bicaudal e teste exato de Fisher: $p=0,825$ e $p=1,000$, respectivamente. QT: quimioterapia; GSTM1: glutatona S-transferase *mu-1*.

Dentre as pacientes que responderam à quimioterapia pós-operatória, em 80,65% a GSTM1 era presente e em 19,35%, nulo. Dentre as pacientes que não responderam à quimioterapia pós-operatória, em 87,5% a GSTM1 foi presente e em 12,5% nulo ($p=0,553$) (Tabela 3).

Tabela 3. Resposta à quimioterapia pós operatória em relação ao glutatona S-transferase *mu-1* e seu polimorfismo glutatona S-transferase *mu-1* nulo

Resposta à QT pós operatória	GSTM1 nulo (%)	GSTM1 (%)	Total
Não	2 (12,5)	14 (87,5)	16
Sim	6 (19,35)	25 (80,65)	31
Total	8	39	47

Para análise estatística, χ^2 de Pearson e teste exato de Fisher (bicaudal): $p=0,553$ e $p=0,697$, respectivamente. QT: quimioterapia; GSTM1: glutatona S-transferase *mu-1*.

DISCUSSÃO

As biotransformações das drogas, em especial as processadas no fígado, são comumente agrupadas em duas fases. Na fase 1, geralmente realizada pelas enzimas do citocromo P-450 (CYP), que inclui as reações de oxidação, redução ou hidrólise, as drogas podem ser ativadas, inativadas ou inalteradas suas atividades. Durante a fase 2, que envolve reações de conjugação, quase sempre ocorre a inativação total do xenobiótico, sendo geralmente realizada pelas enzimas GSTs e N-acetiltransferases (NATs). A presença do polimorfismo nesses genes modifica a atividade enzimática, levando à menor eficácia na destoxificação dos compostos reativos que podem estar envolvidos na carcinogênese ovariana. O efeito da GST no tratamento quimioterápico é contrário ao encontrado na suscetibilidade ao câncer de ovário, pois a destoxificação dos quimioterápicos poderia diminuir sua eficácia. A presença do polimorfismo nesses genes poderia potencializar a resposta ao tratamento com drogas quimioterápicas^(16,17).

A GST catalisa a destoxificação da glutatona (GSH) dependente de xenobióticos eletrofílicos e de certos pro-

dutores do estresse oxidante, e são, portanto, críticos na homeostase celular. Há duas famílias da GST. A família da GST citosólica (solúvel), que compreende as classes *alfa*, *kapa*, *mu*, *omega*, *pi*, *sigma*, *teta* e *zeta*. A segunda família é a GST microsossomal^(18,19).

A GSTM1 pertence à classe *mu* e localiza-se no locus 1p13-3. Esse gene é polimórfico, apresentando os alelos GSTM1a e GSTM1b, que diferem entre si pela substituição de um único par de base. O GSTM1 nulo possui uma deleção no gene que codifica a GSTM1, fazendo com que esta não apresente expressão proteica e que a atividade enzimática seja ausente⁽¹⁷⁾.

O polimorfismo genético é facilmente determinado em estudos populacionais usando o DNA isolado de sangue ou tecidos de arquivos histopatológicos. Esses polimorfismos oferecem o instrumento que pode ser usado em estudos epidemiológicos para explorar as hipóteses de que as GSTs têm papel determinante na resposta individual aos carcinógenos químicos e agentes quimioterápicos.

A resistência à quimioterapia representa uma das causas mais importantes na falha ao tratamento de pacientes com câncer de ovário. O polimorfismo da GST (GSTM1, GSTP1 e GSTT1) tem sido implicado na resistência à quimioterapia e na sobrevida de pacientes com câncer de ovário⁽¹¹⁾.

A sobrevida em casos de câncer de ovário é baixa. O tratamento consiste em cirurgia, que deve retirar todo tumor ou deixar menos que 1cm de tumor residual para, em seguida, instituir a quimioterapia baseada em platina⁽²⁰⁾.

Apesar do fato de a doença residual ser importante fator prognóstico, algumas pacientes que tiveram citorredução ótima adquiriram resistência à quimioterapia e tiveram baixo índice de sobrevida. Por outro lado, há uma minoria de pacientes cujo tumor não foi retirado de maneira ideal (tumor residual maior que 1cm) e responderam bem ao tratamento com quimioterapia, não apresentando recidivas⁽²¹⁾.

A resposta ao tratamento do câncer de ovário é variável e pode ser atribuída, em parte, a variações do polimorfismo genético que pode influenciar no metabolismo das drogas como, por exemplo, a GSTM1, GSTT1 e GSTP1⁽²²⁾.

Por isso, tem sido sugerido que a alta atividade da GST pode resultar em rápida metabolização, diminuindo os efeitos citotóxicos dos quimioterápicos sobre o tumor, levando a uma resposta insatisfatória ao tratamento e a uma menor sobrevida⁽¹⁰⁾.

Alguns estudos relatam benefícios dos genótipos polimórficos das GSTs com a resposta à quimioterapia^(13,22).

Nagle et al. estudaram 454 pacientes com câncer epitelial de ovário e observaram melhora da sobrevida

quando o polimorfismo GSTP1, GSTT1 e GSTM1 estavam presentes⁽¹³⁾.

Medeiros et al. estudaram 24 pacientes com câncer de ovário tratadas com citorredução cirúrgica e quimioterapia pós-operatória com paclitaxel e cisplatina. Os autores verificaram que não houve diferença estatística em relação à sobrevida, porém houve melhora da média de sobrevida e intervalo livre de doença no grupo portador de polimorfismo GSTM1 nulo e GSTT1 nulo⁽²²⁾.

Outros estudos, porém, não demonstraram diferença na resposta à quimioterapia nos casos de câncer de ovário em pacientes com genótipo GST comparado com GST polimórfico^(10,12).

Beeghly et al. avaliaram 215 pacientes portadoras de câncer epitelial de ovário em relação aos genótipos GSTM1, GSTT1 e GSTP1 e seus polimorfismos e não houve correlação com a resposta ao tratamento quimioterápico com cisplatina, carboplatina, paclitaxel ou ciclofosfamida⁽¹⁰⁾.

Lallas et al. avaliaram 146 pacientes com câncer epitelial de ovário em relação ao genótipo GSTM1 e seu polimorfismo GSTM1 nulo e não observou influência na resposta ao tratamento quimioterápico⁽¹²⁾.

Em um estudo as pacientes que apresentavam polimorfismo combinado da GSTM1 nulo e GSTT1 nulo tiveram pior resposta ao tratamento quimioterápico⁽²³⁾.

Howells et al. avaliaram 78 pacientes com carcinoma epitelial de ovário tratadas com quimioterapia e observaram que as pacientes com combinação GSTM1 nulo e GSTT1 nulo foram associadas à má resposta ao tratamento quimioterápico⁽²³⁾.

CONCLUSÃO

No resultado do presente estudo, não foi observada qualquer ação da GSTM1 comparada ao seu polimorfismo GSTM1 nulo, na resposta ao tratamento quimioterápico do câncer avançado do ovário.

REFERÊNCIAS

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer Statistics 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010;60(5):277-300. Erratum in *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):133-4.
- National Cancer Institute, U.S. National Institute of Health. Ovarian cancer [Internet]. [cited 2010 Dez 13]. Available from: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/ovarian>
- Instituto Nacional do Câncer (INCA). Ministério da Saúde. Ovário [Internet]. [citado 2010 Dez 13]. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/ovario>
- Altekruse S, Kosary C, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER cancer statistics review, 1975-2007. National Cancer Institute Bethesda, MD. [cited 2011 Sep 22]. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2007/ [based on November 2009 SEER data submission posted to the SEER web site, 2010].
- Perlman S, Ben-Arie A. [Neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer]. *Harefuah*. 2010;149(6):377-81, 402. Hebrew.
- Pomel C, Jeyarajah A, Oram D, Shepherd J, Milliken D, Dauplat J, et al. Cytoreductive surgery in ovarian cancer. *Cancer Imaging*. 2007;7:210-5.
- Bristow RE, Eisenhauer EL, Santillan A, Chi DS. Delaying the primary surgical effort for advanced ovarian cancer: a systematic review of neoadjuvant chemotherapy and interval cytoreduction. *Gynecol Oncol*. 2007;104(2):480-90.
- McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 1996;334(1):1-6.
- Piccant MJ, Bertelsen K, James K, Cassidy J, Mangioni C, Simonsen E, et al. Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):699-708.
- Beeghly A, Katsaros D, Chen H, Fracchioli S, Zhang Y, Massobrio M, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and ovarian cancer treatment and survival. *Gynecol Oncol*. 2006;100(2):330-7.
- Khrunin A, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogen J*. 2010;10(1):54-61.
- Lallas T, McClain S, Shahin M, Buller R. The glutathione S-transferase M1 genotype in ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9(6):587-90.
- Nagle C, Chenevix-Trench G, Spurdle A, Webb P. The role of glutathione-S-transferase polymorphisms in ovarian cancer survival. *Eur J Cancer*. 2007;43(2):283-90.
- Gattás G, Soares-Vieira J. Cytochrome P450-2E1 and glutathione S-transferase mu Polymorphisms among whites and mulattos from Brazil. *Occup Med (Lond)*. 2000;50:508-11.
- Julka P, Doval D, Gupta S, Rath G. Response assessment in solid tumours: a comparison of WHO, SWOG and RECIST guidelines. *Br J Radiol*. 2008;81(966):444-9.
- Delort L, Chalabi N, Satih S, Rabiau N, Kwiatkowski F, Bignon YJ, et al. Association between genetic polymorphisms and ovarian cancer risk. *Anticancer Res*. 2008;28(5B):3079-81.
- Losi-Guembarovski R, Cólus I. Glutathione S-transferase M1 (GSTM-1): distribuição étnica e relação com câncer. *Semina: Ci Biol Saúde*. 2001;22(1):3-9.
- Hayes J, Flanagan J, Jowsey I. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005;45(1):51-88.
- Dewaele M, Hannelore M, Agostinis P. ROS-mediated mechanisms of autophagy stimulation and their relevance in cancer therapy. *Autophagy*. 2010;6(7):838-954.
- Guppy A, Nathan P, Rustin G. Epithelial ovarian cancer. A review of current management. *Clin Oncol*. 2005;17:399-411.
- Berchuck A, Iversen E, Lancaster J, Pittman J, Luo J, Lee P, et al. Patterns of gene expression that characterize long-term survival in advanced stage serous ovarian cancers. *Clin Cancer Res*. 2005;11(10):3686-96.
- Medeiros R, Pereira D, Afonso N, Palmeira C, Faleiro C, Afonso-Lopes C, et al. Platinum/paclitaxel based chemotherapy in advanced ovarian carcinoma: glutathione S-transferase genetic polymorphisms as predictive biomarkers of disease outcome. *Int J Clin Oncol*. 2003;8(2):156-61.
- Howells R, Dhar K, Hoban P, Jones PW, Fryer AA, Redman CW, et al. Association between glutathione-S-transferase GSTP1 genotypes, GSTP1 over-expression, and outcome in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2004;14(2):242-50.