

# ANÁLISE DOS GENES GSTM1 E GSTT1 EM PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO

CÁSSIA VERIDIANA DOURADO LEME<sup>1</sup>, LUIS SÉRGIO RAPOSO<sup>2</sup>, MARIANGELA TORREGLOSA RUIZ<sup>3</sup>, JOICE MATOS BISELLI<sup>4</sup>, ANA LÍVIA SILVA GALBIATTI<sup>5</sup>, JOSÉ VÍCTOR MANIGLIA<sup>6</sup>, ÉRIKA CRISTINA PAVARINO-BERTELLI<sup>7</sup>, ENY MARIA GOLONI-BERTOLLO<sup>8</sup>\*

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

## RESUMO

**OBJETIVO.** Estabelecer o perfil clínico e demográfico bem como identificar os fatores de risco entre os pacientes com câncer de cabeça e pescoço e relacioná-los ao polimorfismo dos genes GSTT1 e GSTM1.

**MÉTODOS.** Foram estudados 100 pacientes com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço e 100 indivíduos sem história de neoplasia. A análise molecular foi realizada pela técnica de PCR multiplex. Para a análise estatística, os dados foram tabulados e comparados pelo teste exato de Fisher. Foi também utilizado o teste do Qui quadrado e de regressão logística múltipla.

**RESULTADOS.** Há predomínio de indivíduos tabagistas (OR= 5,32; IC95%= 2,04-13,86; p=0,0006), etilistas (OR= 5,04; IC95%= 2,19-11,59; p= 0,0001) em pacientes com neoplasia de cabeça e pescoço. Foi identificado genótipo nulo do gene GSTT1 em 47% dos pacientes e 41% dos controles (OR= 0,67; IC 95%= 0,34-1,35; p= 0,2648). Da mesma forma, identificou-se o genótipo nulo do gene GSTM1 em 66% dos pacientes e 75% dos controles (OR= 2,25; IC95%= 1,05-4,84; p= 0,0368). A análise dos genótipos combinados demonstrou associação entre GSTM1\*0/GSTT1 e a ocorrência de carcinoma de cabeça e pescoço (OR= 7,64; IC 95%= 1,72-34,04; p= 0,0076). A análise dos parâmetros clínicos mostrou que é possível identificar associação entre genótipo GSTT1 nulo e neoplasia na laringe, o inverso ocorrendo com este genótipo e a faringe.

**CONCLUSÃO.** Em nosso estudo foi possível estabelecer a associação entre a nulidade do genótipo GSTM1 e dos genótipos combinados GSTT1/GSTM1 \*0 ([ ] / [-]) a ocorrência de câncer de cabeça e pescoço.

## \*Correspondência:

Av. Brigadeiro Faria Lima,  
5416 - Vila São José  
São José do Rio Preto - SP  
CEP: 15090-000

UNITERMOS: Neoplasias de cabeça e pescoço. Glutathione transferase. Tabaco. Bebidas alcoólicas.

## INTRODUÇÃO

Câncer de cabeça e pescoço (CCP) é um termo que designa neoplasias malignas que ocorrem no trato aerodigestivo superior, ou seja, que derivam do epitélio da cavidade oral, faringe, laringe, cuja incidência de ocorrência, correspondem, respectivamente, a 40%, 15% e 25%<sup>1-3</sup>. O tipo histológico mais comum é o carcinoma de células escamosas ou carcinoma espinocelular que ocorre em 90% dos pacientes<sup>3,4</sup>. Este tipo de câncer é o quinto tipo mais comum no mundo e está associado a baixas taxas de sobrevida e altas taxas de morbidade quando diagnosticados em estágios avançados<sup>3</sup>.

No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA),

a estimativa para câncer de cavidade oral para o ano de 2010 é de 13.250 novos casos para o sexo masculino e 4.880 em mulheres, totalizando 18.130 novos casos<sup>5</sup>.

Diversos fatores estão relacionados com o desenvolvimento de câncer de cabeça e pescoço, porém são considerados fatores de risco independentes tabagismo e etilismo<sup>2,3,6,7</sup>. Quando associados, desempenham um efeito sinérgico, aumentando o risco de desenvolvimento de câncer nessa região anatômica em até 15 vezes<sup>3,8,9</sup>. Há maior incidência entre os indivíduos do sexo masculino, porém tem-se evidenciado aumento de sua ocorrência entre mulheres devido ao aumento de consumo de álcool e tabaco<sup>3</sup>.

O cigarro é constituído por agentes carcinogênicos, como

1. Graduanda em Medicina - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
2. Mestre em Ciências da Saúde e professor do departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
3. Doutora em Ciências da Saúde pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
4. Mestre e doutoranda em Ciências da Saúde pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
5. Graduada em Ciências Biológicas e mestranda em Ciências da Saúde pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
6. Professor livre-docente em Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
7. Professora livre-docente em Genética Humana e médica pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP
8. Livre Docente em Genética Humana e Médica - Professora do Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

N-nitrosaminas e aminas aromáticas, que interagindo com o material genético podem resultar na formação de adutos de DNA, os quais favorecem mutações celulares e hiperplasia reativa na mucosa do trato aerodigestivo superior. O álcool não é genotóxico, mas pode atuar em sinergia com o cigarro, suprimindo a remoção das nitrosaminas ao inibir as várias isoformas da superfamília do citocromo P450 (CYPs), enzimas envolvidas no processo de detoxificação celular, aumentando a formação dos adutos<sup>9-11</sup>.

Dois grupos de enzimas estão envolvidos no processo de biometabolização dos compostos químicos do cigarro e do álcool: as enzimas do metabolismo oxidativo (Fase I) e as enzimas conjugadoras (Fase II). As enzimas oxidativas da Fase I, principalmente as enzimas da superfamília do citocromo P-450 (CYPs), convertem muitos compostos a metabólitos altamente reativos. Por outro lado, as enzimas da Fase II atuam de modo a inativar os produtos da Fase I, tornando os metabólitos hidrofílicos e passíveis de excreção como resultado da conjugação desses com o substrato endógeno (glutathiona, sulfato, glicose, acetato) por meio da ação das glutathiona-S-transferases (GSTs), UDP-glucuroniltransferases e N-acetiltransferases (NATs)<sup>12-17</sup>.

As glutathiona-S-transferases (GSTs) são uma importante família de enzimas envolvidas na biosíntese e metabolismo de muitas substâncias, incluindo a detoxificação de carcinógenos químicos exógenos, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, que são encontrados no cigarro. Compreendem quatro classes de genes ( $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\pi$ , and  $\theta$ ) e cada classe por sua vez, incluem vários genes<sup>18</sup>. Polimorfismos em genes que codificam as *GSTM1* e *GSTT1* podem alterar a expressão ou função das mesmas e resultar em ativação ou detoxificação de compostos carcinogênicos<sup>12-16</sup>.

O gene *GSTM1* (cromossomo 1p13.1), é polimórfico e 20% a 50% dos indivíduos não expressam a enzima devido a uma deleção gênica em homozigose (*GSTM1\*0*)<sup>19</sup>; essa frequência é mais alta em caucasóides e asiáticos do que em africanos<sup>20</sup>. O gene *GSTT1* (cromossomo 22q11.2) é igualmente polimórfico, apresentando Genótipo nulo por deleção (*GSTT1\*0*) e consequente perda completa da atividade enzimática. A frequência de indivíduos que não expressam a enzima é mais alta em asiáticos (60%) e africanos (40%) que em caucasóides (20%)<sup>21,22</sup>.

Polimorfismos desses genes *GSTM1* e *GSTT1* podem resultar em diferenças na atividade enzimática, podendo favorecer mecanismos que aumentam a suscetibilidade ao câncer. Estudos que relacionam estes polimorfismos de deleção com a ocorrência de carcinoma de cabeça e pescoço divergem entre si: alguns demonstram associação dessa neoplasia com o genótipo nulo de *GSTM1*<sup>7,21,23-25</sup>, enquanto outros não<sup>26-30</sup>. O mesmo ocorre para o genótipo nulo de *GSTT1*, mostrando associação com a doença<sup>7,23,25</sup> ou não<sup>26,27,30-32</sup>. Dessa forma, o desenvolvimento de câncer de cabeça e pescoço é resultado da interação entre fatores ambientais e herança genética<sup>24,33</sup>.

Assim, os objetivos deste trabalho foram estabelecer o perfil clínico, sociodemográfico e identificar fatores de risco (tabagismo e etilismo) de pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

## MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética da instituição de ensino SISNEP - 0976.0.140.000-05. Os participantes foram incluídos após a obtenção do Termo de Consentimento Livre

e Esclarecido (TCLE) e em seguida submetidos a questionário padronizado e as informações são mantidas em sigilo.

Foram avaliados nesse estudo caso-controle indivíduos que não apresentavam história familiar de câncer e não possuíam antecedente pessoal de câncer. Dessa forma, foram avaliados 100 pacientes em seguimento ambulatorial no serviço de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço de um hospital universitário do Noroeste do Estado de São Paulo, que receberam o diagnóstico histopatológico de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, independente do estadiamento clínico. Todas as amostras de sangue periférico foram coletadas antes do início do tratamento. O grupo controle incluiu 100 indivíduos procedentes de outros serviços oferecidos pelo mesmo hospital universitário.

As variáveis analisadas foram idade, gênero e exposição a fatores de risco (cigarro e álcool). Foram classificados como fumantes indivíduos que consumiram mais de 100 cigarros (comerciais ou de fumo) por toda a vida e etilistas os pacientes que bebem mais de quatro drinques de bebida alcoólica (destilada ou fermentada) por semana durante seis meses ou mais, de acordo Ahrendt et al., em 2000<sup>34</sup>.

Os dados clínicos referentes ao sítio primário do tumor e estadiamento clínico (TNM) foram classificados de acordo *Union Internationale Contrele Cancer* (UICC), 2002 e *American Joint Committee for Cancer* (AJCC), 1997<sup>35</sup>.

O DNA genômico foi obtido por meio de sangue periférico e realizada a amplificação por PCR de acordo com Miller et al.<sup>36</sup>. O produto do PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo, no qual *GSTT1* é observado como um fragmento de 480 pares de base (pb), *GSTM1* com 219 pb e o *CYP1A1* com 312 pb. Uma sequência do éxon 7 do gene *CYP1A1* foi utilizado como controle interno de amplificação.

Os dados demográficos e de distribuição genotípica dos polimorfismos foram tabulados e comparados pelo teste exato de Fisher e o teste do Qui quadrado. O modelo de regressão logística foi utilizado para determinar o efeito das variáveis dependentes no câncer de cabeça e pescoço e para agrupar as características clínico-patológicas como variáveis dependentes. Os resultados foram apresentados em *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC - 95%). O nível de significância foi estabelecido em 5% ( $p=0,05$ ).

## RESULTADOS

Foram analisados dados do perfil sociodemográfico (gênero e idade) e exposição a fatores de risco (hábitos tabagista e etilista). Neste estudo houve predomínio de indivíduos do sexo masculino (87%) no grupo de pacientes, com média de idade igual a 58,46 anos; o grupo controle é representado por 68% de indivíduos do sexo masculino e média de idade igual a 55,32 anos. A mediana da idade é igual a 56 anos (Tabela 1).

Foram investigados os dois principais hábitos associados com o CCP, tabagismo e etilismo e ambos foram expressivamente mais frequentes no grupo dos indivíduos com neoplasia (Tabela 1). As frequências dos polimorfismos genéticos igualmente estão apresentadas na Tabela 1.

Os dados do modelo de análise multivariada (Tabela 1) mostram que o tabagismo [OR: 5,32; IC 95% (2,04-13,86);  $p=0,0006$ ], o etilismo [OR: 5,04; IC 95% (2,19-11,59);

$p=0,0001$ ] e o genótipo *GSTM1* nulo [*GSTM1*\*0] [OR: 2,25; IC 95% (1,05-4,84);  $p=0,0368$ ] são fatores preditores para o câncer de cabeça e pescoço.

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise dos genótipos combinados, em que *GSTT1/GSTM1*\*0 ([+]/[-]) apresenta um aumento para o risco de câncer de cabeça e pescoço [OR= 7,64; IC 95% (1,72-34,04);  $p=0,0076$ ].

Quanto à localização da neoplasia, os sítios anatômicos primários ocorreram com a frequência de 35% na cavidade oral, 26% na faringe, 36% localizados na laringe e em 3% não foi possível identificar o sítio primário do tumor.

A análise dos parâmetros clínicos e polimorfismos mostraram associação entre o genótipo *GSTT1* nulo com sua ocorrência na laringe [OR= 5,33; IC 95% (1,99-14,36);  $p=0,0009$ ] e relação inversa na faringe [OR= 0,32; IC 95% (0,12-0,89);  $p=0,0282$ ]. Para os demais sítios anatômicos estudados, além da extensão tumoral (parâmetro T), comprometimento linfonodal (parâmetro N) e ocorrência de metatástases (parâmetro M), não foi possível identificar associações.

**Tabela 1 - Distribuição percentual dos dados demográficos e dos genes envolvidos em pacientes com câncer de cabeça e pescoço e indivíduos sem história de neoplasia**

Variáveis	Pacientes %	Controles %	OR (IC 95%)	p
<b>Idade</b>				
Mediana				
< 56 anos	63	62	Referência	
≥ 56 anos	37	38	4 (1,97-8,13)	0,0001
<b>Gênero</b>				
Masculino	87	68	Referência	
Feminino	13	32	0,90 (0,35-2,37)	0,8406
<b>Tabagismo</b>				
Não	08	48	Referência	
Sim	92	52	5,32 (2,04-13,86)	0,0006
<b>Etilismo</b>				
Não	18	56	Referência	
Sim	82	44	5,04 (2,19-11,59)	0,0001
<b>Gene GSTT1</b>				
Positivo	53	59	Referência	
Negativo	47	41	0,67 (0,34-1,35)	0,2648
<b>Gene GSTM1</b>				
Positivo	34	25	Referência	
Negativo	66	75	2,25 (1,05-4,84)	0,0368

**Tabela 2 - Frequências de genótipos combinados em pacientes com câncer de cabeça e pescoço e no grupo controle**

Genótipos	Pacientes	Controles	OR ( IC )	p
<i>GSTM1</i> [+]/ <i>GSTT1</i> [+]	28	35	Referência	
<i>GSTM1</i> [-]/ <i>GSTT1</i> [-]	14	19	1,52 (0,42-5,58)	0,5214
<i>GSTM1</i> [+]/ <i>GSTT1</i> [-]	38	40	1,03 (0,46-2,34)	0,9396
<i>GSTM1</i> [-]/ <i>GSTT1</i> [+]	20	6	7,64 (1,72-34,04)	0,0076

## DISCUSSÃO

Este estudo confirma o fato de o desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço estar relacionado com alguns hábitos, como tabagismo e etilismo. Estudos epidemiológicos mostram que a exposição a cigarro e álcool são os fatores de risco mais potentes para câncer de cabeça e pescoço<sup>18,37</sup>.

Neste estudo evidenciamos uma frequência aumentada do genótipo nulo de *GSTM1* em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, quando comparados a um grupo de indivíduos sem história de neoplasia. Resultados de meta-análises demonstram a associação entre o genótipo nulo de *GSTM1* e o aumento do risco para o desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço<sup>38-41</sup>.

Em análise logística multivariada, evidenciamos que o genótipo combinado *GSTT1/GSTM1*\*0 ([+]/[-]) confere maior suscetibilidade para o desenvolvimento do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, resultados semelhantes aos encontrados por outros autores<sup>7,23,42,43</sup>.

Diversos estudos não puderam correlacionar o genótipo *GSTT1* nulo com o câncer de cabeça e pescoço<sup>26,27,43</sup>, resultado encontrado por nosso estudo. Da mesma forma, não houve associação entre esse tipo de neoplasia e os genótipos nulos combinados *GSTT1* nulo e *GSTM1* nulo, como o observado por Singh et al.<sup>7</sup> Em contrapartida, estudo chinês demonstrou correlação entre o duplo genótipo nulo *GSTT1* e *GSTM1* com o câncer nasofaríngeo entre homens<sup>44</sup>.

Quanto à relação entre a deleção dos genes com sítios anatômicos específicos, Duarte et al.<sup>25</sup> encontraram associação entre o genótipo nulo de *GSTM1* com o aumento do risco no desenvolvimento de leucoplasia na cavidade oral. Em contrapartida, identificamos em nosso estudo relação entre a ocorrência de carcinoma na laringe com o genótipo nulo de *GSTT1* e, ao contrário, um efeito protetor deste genótipo na faringe. Esses dados se devem às diferenças embriológicas, histológicas e moleculares entre as regiões anatômicas, decorrendo delas o peculiar comportamento biológico deste tipo de tumor nas diversas localizações anatômicas<sup>45,46</sup>.

Parâmetros histopatológicos como extensão tumoral, invasão de linfonodos e metástases foram avaliados, porém permanece em controvérsia na literatura, pois há relação em alguns estudos como o de Matthias et al.<sup>47</sup> que revelou associação entre o genótipo nulo de *GSTT1* com a ocorrência de tumores T3/T4 e a ausência de linfonodos; enquanto Losi-Guembarovski et al.<sup>32</sup> não encontraram associação estatisticamente significativa, o mesmo ocorrendo em nosso estudo.

## CONCLUSÃO

Em nosso estudo pudemos estabelecer, por meio de análise logística multivariada, a associação entre o gênero masculino, idade avançada, hábitos tabagista e etilista com a ocorrência de câncer de cabeça pescoço, bem como a nulidade do genótipo *GSTM1*; houve maior ocorrência em cavidade oral e associação entre a ocorrência desse tumor na laringe com o genótipo nulo.

**Suporte Financeiro:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Conflito de interesse:** não há

## SUMMARY

### GSTM1 AND GSTT1 GENES ANALYSIS IN HEAD AND NECK CANCER PATIENTS

**OBJECTIVE.** To establish the clinical and demographic profile and identify risk factors among patients with head and neck cancer and relate them to the polymorphism of GSTT1 and GSTM1.

**METHODS.** One hundred patients with head and neck cancer and 100 control group individuals without history of neoplasm were analyzed. The molecular analysis were made by multiplex polymerase chain reaction. For statistical analysis, data were tabulated and compared by the Fisher's exact test, the Chi-square test and multiple logistic regression were also used.

**RESULTS.** There was prevalence of smokers (OR = 5.32, CI 95% CI = 2.04-13.86  $p = 0.0006$ ), alcohol drinkers (OR = 5.04, CI 95% = 2.19-11.59  $p = 0.0001$ ) in head and neck cancer patients. The GSTT1 null genotype was found in 47% of the patient and 41% of the control group (OR = 0.67; CI 95% = 0.34-1.35;  $p = 0.2648$ ). Likewise, the GSTM1 null genotype was found in 66% of the patient and 75% of the control group (OR = 2.25; CI 95% = 1.05 - 4.84;  $p = 0.0368$ ). The combined GSTT1 and GSTM1 gene null genotype shown association between GSTM1\*/GSTT1 and occurrence of head and neck carcinoma (OR = 7.64; CI 95% = 1.72-34.04;  $p = 0.0076$ ). Analysis of clinical-pathological features showed association between GSTT1 null genotype and larynx, the inverse relation between this genotype and pharynx.

**CONCLUSION.** In our study it was possible to establish association between GSTM1 null genotypes and head and neck cancer. [Rev Assoc Med Bras 2010; 56(3): 299-303]

**KEY WORDS:** Head and neck. Neoplasms. Tobacco. Glutathione transferase. Alcohol consumption.

## REFERÊNCIAS

- Döbrossy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer Metastasis Rev.* 2005;24:9-17.
- Ruiz MT, Bertelli EP, Maniglia JV, Ruback MJC, Goloni-Bertollo EM. Epidemiologia e biomarcadores de em câncer de cabeça e pescoço. *Arq Ciênc Saúde.* 2006;13:34-8.
- Marcu LG, Yeoh E. A review of risk factors and genetic alterations in head and neck carcinogenesis and implications for current and future approaches to treatment. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009;135:1303-14.
- Zender CA, Petruzelli GJ. Why do patients with head and neck squamous cell carcinoma experience distant metastases: can they be prevented? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;13:101-4.
- Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil. [citado 2 fev 2010]. Rio de Janeiro: INCA; 2009. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.
- Andreotti M, Rodrigues AN, Cardoso LM, Figueiredo RA, Eluf-Neto J, Wunsch-Filho V. Occupational status and cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cad Saúde Pública.* 2006;22:543-52.
- Singh M, Shah PP, Singh AP, Ruwali M, Mathur N, Pant MC, et al. Association of genetic polymorphisms in glutathione S-transferases and susceptibility to head and neck cancer. *Mutat Res.* 2008;638:184-94.
- Licitra L, Rossini C, Bossi P, Locati LD. Advances in the changing patterns of head and neck cancer. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;14:95-9.
- Ragin CC, Modugno F, Gollin SM. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. *J Den Res.* 2007;86:104-10.
- Pytynia KB, Grant JR, Etzel CJ, Roberts DB, Wei Q, Sturgis EM. Matched-pair analysis of survival of never smokers and ever smokers with squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2004;22:3981-8.
- Meireles JRC, Lopes MA, Alves NN, Cerqueira EMM. Apoptose em células esfoliadas da mucosa bucal de indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes mutagênicos e carcinogênicos. *Rev Bras Cancerol.* 2006;52:337-43.
- Geisler SA, Olshan AF. GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-huge review. *Am J Epidemiol.* 2001;154:95-105.
- Abbas A, Delvinquiere K, Lechevreil M, Lebailly P, Gauduchon P, Launoy G, Sichel F. GSTM1, GSTT1, GSTP1 and CYP1A1 genetic polymorphisms and susceptibility esophageal cancer in a French population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. *World J Gastroenterol.* 2004;10:3389-93.
- Evans AJ, Henner WD, Eilers KM, Montalto MA, Wersinger EM, Andersen PE, et al. Polymorphisms of GTT1 and related genes in head and neck cancer risk. *Head Neck.* 2004;26:63-70.
- Liu CJ, Chang CS, Lui MT, Dang CW, ShihYH, Chang KW. Association of GST genotypes with age of onset and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2005;54:475-81.
- Colombo J, Rahal P. Alterações genéticas em câncer de cabeça e pescoço. *Rev Bras Cancerol.* 2009;55:165-74.
- Taioli E. Gene-environment interaction in tobacco-related cancers. *Review. Carcinogenesis.* 2008;29:1467-74.
- Báez A. Genetic and environmental factors in head and neck cancer genesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2008;26:174-200.
- Seidegard J, Ekström G. The role of human glutathione transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 1999;20:743-8.
- Roth MJ, Dowsey SM, Wang G, Tangrea JA, Zhou B, Ratnasinghe D, et al. association between GSTM1\*0 and squamous dysplasia of the esophagus in the high risk region of Linxian, China. *Cancer Lett.* 2000;156:73-81.
- Zheng T, Holford TR, Zahm SH, Owens PH, Boyle P, Zhang Y, et al. Cigarette smoking, glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and breast cancer risk (United States). *Cancer Causes Control.* 2002;13:637-45.
- Ye Z, Song H, Higgins JP, Pharoah P, Donesh J. Five glutathione s-transferase gene variant in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: meta-analysis of 130 studies. *PLoS Med.* 2006;3:e91.
- Soya SS, Vinod T, Reddy KS, Gopalakrishnan S, Adithan C. Polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and upper aerodigestive tract cancer risk among smokers, tobacco chewers and alcoholics in a Indian population. *Eur J Cancer.* 2007;43:2698-706.
- Suzen HS, Guvenc G, Turanlı M, Comert E, Duydu Y, Elhan A. The role of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in head and neck cancer risk. *Oncol Res.* 2007;16:423-9.
- Duarte EC, Ribeiro DC, Gomez MV, Ramos-Jorge ML, Gomez RS. Genetic polymorphisms of carcinogen metabolizing enzymes are associated with oral leukoplakia development and p53 overexpression. *Anticancer Res.* 2008;28:1101-6.
- Biselli JM, Leal RCAC, Ruiz MT, Goloni-Bertollo EM, Maniglia JV, Rossit ARB, et al. Polimorfismos GSTT1 e GSTM1 em indivíduos tabagistas com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço. *Rev Bras Otorinolaringol.* 2006;72:654-8.
- Goloni-Bertollo EM, Biselli JM, Correia LCL, Maniglia JV, Rossit ARB, Ruiz MT, et al. Avaliação da influência da nulidade dos genótipos GSTT1 e GSTM1 na carcinogênese em cabeça e pescoço. *Rev Assoc Med Bras.* 2006;52:365-8.
- Rossini A, Rapozo DCM, Soares Lima SC, Guimarães DP, Ferreira MA, Teixeira R, et al. Polymorphisms of GSTP1 and GSTT1, but not of CYP2A6, CYP2E1 or GSTM1, modify the risk for esophageal cancer in a western population. *Carcinogenesis.* 2007;28:2537-42.
- Reszka E, Czekaj P, Adamska J, Wasowicz W. Relevance of glutathione S-transferase M1 and cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms to the development of head and neck cancers. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46:1090-6.
- Amtha R, Ching CS, Zain R, Razak IA, Basuki B, Roelans BO, Gautama W, Purwanto D. GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 polymorphisms and risk of oral cancer: a case-control study in Jakarta, Indonesia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2009;10:21-6.
- Buch SC, Notani PN, Bhisey RA. Polymorphism at GSTM1, GSTM3 and GSTT1 gene loci and susceptibility to oral cancer in an Indian population. *Carcinogenesis.* 2002;23:803-7.
- Losi-Guembrovski R, Cólus IM, De Menezes RP, Polisel F, Chaves VN, et al. Lack of association among polymorphic xenobiotic-metabolizing enzyme genotypes and the occurrence and progression of oral carcinoma in a Brazilian population. *Anticancer Res.* 2008;28:1023-8.
- Varela-Lema L, Taioli E, Ruano-Ravina A. Meta-analysis and pooled analysis of GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms and oral and pharyngeal cancers: a HuGE-GSEC review. *Genet Med.* 2008;10:369-84.
- Ahrendt SA, Chown JT, Yang SC, Wu L, Zhang MJ, Jen J, et al. Alcohol consumption and cigarette smoking increase the frequency of p53 mutations in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2000;60:3155-9.
- Sobin LH, Wittelind CH. *Internacional union against cancer: TNM classification of malignant tumours.* 6th ed. New York: Wiley; 2000.
- Miller SA, DykesDD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:1215.
- Argiris A, Karamouzis MV, Raben D. Head and neck cancer. *Lancet.* 2008;371:1765-9.
- Hiyama T, Yoshihara M, Tanaka S, Chayama K. Genetic polymorphisms and head and neck cancer risk (Review). *Int J Oncol.* 2008;32:945-73.

39. Zhuo X, Cai L, Xiang Z, Li Q, Zhang X. *GSTT1* and *GSTM1* polymorphisms and nasopharyngeal cancer risk: an evidence-based meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009;32:28-46.
40. Hashibe M, Brennan P, Strange RC. Meta- and pooled analyses of *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* and *CYP1A1* genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12:1509-17.
41. Tripathy CB, Roy N. Meta-analysis of glutathione S-transferase M1 genotype and risk toward head and neck cancer. *Head Neck.* 2006;28:217-24.
42. Palma S, Cornetta T, Padua L, Cozzi R, Appolloni M, Ievoli E, Testa A. Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on genotoxic effects induced by tobacco smoke. *Mutat Res.* 2007;633:1-12.
43. Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTM3* gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:303.e1-e6.
44. Guo X, O'Brien SJ, Zeng Y, Nelson GW, Winkler CA. *GSTT1* and *GSTM1* gene deletions and the risk for nasopharyngeal carcinoma in han chinese. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:1760-3.
45. Tímár J, Ladányi A, Forster-Horváth C, Lukits J, Dome B, Remenár E, et al. Neoadjuvant immunotherapy of oral squamous cell carcinoma modulates intratumoral CD4/CD8 ratio and tumor microenvironment: a multicenter phase II clinical trial. *J Clin Oncol.* 2005;23:3421-32.
46. Breda E, Catarino R, Coelho A, Sousa H, Medeiros R. Estudo do carcinoma de tipo nasofaríngeo. Introdução e perspectiva multidisciplinar. *Acta Med Port.* 2008;21:273-84.
47. Matthias C, Jahnke V, Hand P, Fryer AA, Strange RC. Immunohistologic and molecular genetic studies of the effect of glutathione-S-transferases on the development of squamous epithelial carcinomas in the area of the head-neck. *Laryngorhinootologie.* 1999;78(4):182-8.

---

Artigo recebido: 07/07/09  
Aceito para publicação: 22/02/10

---