

Polimorfismo nulo do gene *GSTM1* na suscetibilidade do câncer de mama: evidências baseadas em meta-análise

*Null polymorphism of *GSTM1* gene in susceptibility of breast cancer: evidence based on meta-analysis*

Daiane de Oliveira Cunha¹, Paula Lailla Freitas Ribeiro¹, Xisto Sena Passos², Cesar Augusto Sam Tiago Vilanova-Costa³, Hellen da Silva Cintra de Paula², Jacqueline Andréia Bernardes Leão Cordeiro⁴, Vera Aparecida Saddi⁵, Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva^{2,5}

Descritores

Neoplasias da mama
Polimorfismo genético
Suscetibilidade a doenças

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é a segunda neoplasia mais frequente no mundo e a primeira mais comum no sexo feminino. Dados epidemiológicos apontam o efeito de agentes carcinogênicos e fatores ambientais para maior suscetibilidade em desenvolver o câncer de mama. No contexto das avaliações moleculares, o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* é comumente estudado na tentativa de associá-lo ao desenvolvimento desta neoplasia. **Objetivo:** Avaliar se os indivíduos que apresentam o polimorfismo nulo para o gene *GSTM1* possuem suscetibilidade ao câncer de mama. **Métodos:** Realizou-se meta-análise com 10 estudos do tipo caso-controle, que apresentavam pacientes com confirmação histológica de câncer de mama e que faziam uso da PCR e/ou sequenciamento de DNA para determinar o polimorfismo nulo do gene *GSTM1*. A análise foi realizada após a coleta dos dados necessários (autor, ano de publicação, país e resultados). Os cálculos estatísticos e a representação dos dados foram obtidos com o auxílio do software BioEstat[®] 5.0. **Resultados:** O total de indivíduos, após o agrupamento dos dados dos estudos, foi de 7.607 (3.759 casos e 3.848 controles). As frequências para o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* em pacientes com câncer de mama foram, respectivamente, 51,0% no grupo casos e 50,3% no grupo controle. A análise dos dados obtidos revelou OR: 0,967 e IC95% 0,883–1,060. **Conclusão:** Conforme os dados obtidos na meta-análise, não foi encontrada associação significativa entre o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* e o desenvolvimento do câncer de mama. Assim, os resultados do presente estudo mostram que o polimorfismo em questão não alterou suscetibilidade ao câncer de mama, portanto, devem-se levar em consideração outros fatores com maior significância, como: tabagismo, outros marcadores genéticos, tais como *BRCA1* e *BRCA2*, paridade, entre outros.

Keywords

Breast neoplasms
Polymorphism, genetic
Disease susceptibility

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer is the second most common cancer worldwide and the first more common in females. Epidemiological data show the effect of carcinogens and environmental factors in the increased susceptibility of developing breast cancer. In the context of molecular assessments, the null

Trabalho realizado na Universidade Paulista (UNIP) – Goiânia (GO), Brasil.

¹Curso de Graduação em Biomedicina da UNIP – Goiânia (GO), Brasil.

²UNIP – Goiânia (GO), Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Goiânia (GO), Brasil.

⁴Faculdade de Enfermagem da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

⁵Departamento de Medicina e Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Saúde (MCAS) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC/GO) – Goiânia (GO), Brasil.

Endereço para correspondência: Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva – Rua 227A, 72 apto 301 – Setor Universitário – CEP 74610-155 – Goiânia (GO), Brasil – E-mail: marciocmed@gmail.com

Conflito de interesses: nada a declarar.

Recebido em: 17/05/2015. Aceito em: 19/05/2015.

polymorphism of GSTM1 gene is commonly studied in an attempt to associate with the development of this neoplasm. Objective: To evaluate whether individuals with the GSTM1-null polymorphism possess susceptibility to breast cancer. Methods: It was conducted a meta-analysis of 10 case-control studies, which had patients with histological confirmed breast cancer and used PCR and/or DNA sequencing to determine the null polymorphism of GSTM1 gene. The analysis was performed after gathering the necessary data (author, publication year, country and results). Statistical calculations and the representation of the data were obtained with the help of BioEstat® 5.0 software. Results: The total number of individuals, after grouping the data was 7,607 (3,759 cases and 3,848 controls). The frequencies for the null polymorphism of GSTM1 gene were, respectively, 51.0% in the case group and 50.3% in the control group. The analysis of the obtained data revealed OR: 0.967 and 95%CI 0.883–1.060. Conclusion: According to the data obtained by meta-analysis it was not found significant association between GSTM1-null polymorphism and the development of breast cancer. Thus, the results of this study revealed that the polymorphism in question did not change the susceptibility to breast cancer, so it should be considered other factors with greater significance, such as smoking, other genetic markers like BRCA1 and BRCA2, parity, among others.

Introdução

O câncer de mama é a segunda neoplasia mais frequente no mundo e a primeira mais comum no sexo feminino^{1,2}. No Brasil, como no restante do mundo, o câncer de mama é visto como um grande problema de saúde pública, pois apresenta índices elevados de morbimortalidade³. Estudos epidemiológicos apontam para o efeito sinérgico de agentes carcinogênicos e fatores ambientais no acréscimo de risco a suscetibilidade ao câncer de mama⁴.

A glutationa S-transferase (GST) é uma enzima intracelular, cuja ação impede o efeito danoso de toxinas endógenas e exógenas (xenobióticos) sobre as células e as moléculas de DNA. Por estarem diretamente relacionadas com o metabolismo de agentes carcinogênicos e poluentes ambientais, a ausência de isoenzimas específicas de GST estão comumente relacionadas ao aumento da suscetibilidade a diversos tipos de câncer^{5,6}. O gene *GSTM1*, localizado no cromossomo 1p13.1, é alvo de polimorfismo de deleção de exposição. A ocorrência de deleção nesse gene é designada por *GSTM1-0* ou *GSTM1*-nulo, ou seja, o polimorfismo confere uma completa ausência na atividade enzimática^{7,8}.

O objetivo deste trabalho foi de avaliar estudos do tipo caso-controle que realizaram a análise do polimorfismo *GSTM1* em relação ao desenvolvimento do câncer de mama e, por meio de meta-análise, determinar se indivíduos que apresentam tal polimorfismo possuem uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de neoplasia mamária.

Metodologia

Tratou-se de uma meta-análise, a qual é descrita como um procedimento cuja função é examinar, de modo simultâneo, os resultados de diversas investigações sobre um mesmo assunto. O método se justifica pois muitos estudos sobre um determinado tema, apesar de apresentarem concordâncias, podem também apresentar resultados

discordantes entre si, fato que aumenta a necessidade de análises conjuntas para que se possam gerar conclusões com maior segurança⁹.

Este trabalho avaliou estudos do tipo caso-controle, que utilizaram amostras de pacientes com confirmação histológica de câncer de mama e que faziam uso da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e/ou sequenciamento de DNA para determinar o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* no contexto do câncer de mama.

Os artigos utilizados foram identificados no banco de dados da *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e PubMed do *National Center for Biotechnology Information, USA* (NCBI), entre os anos de 1995 a 2013. Tal abordagem teve o intuito de analisar um conjunto de estudos, realizando cálculos capazes de combinar os diversos resultados, descrevendo os pontos em comum e as fontes de discordância entre os estudos por meio de técnicas estatísticas, visando por fim responder à questão proposta.

A análise foi realizada após a coleta de dados como: autor, ano de publicação, local onde o estudo foi realizado e os resultados obtidos por cada autor. Os cálculos estatísticos e a representação dos dados por meio de gráficos e tabelas foram realizados com o auxílio do software BioEstat® 5.0.

Resultados

Para a realização da presente meta-análise, foram utilizados 10 artigos científicos, de onde foram coletados dados acerca do polimorfismo nulo do gene *GSTM1* em pacientes com câncer de mama e em pacientes controles (saudáveis). O total combinado de indivíduos genotipados pelos estudos selecionados foi de 7.607, sendo 3.759 casos e 3.848 controles (Tabela 1).

A frequência de todos os indivíduos estudados que não apresentavam o polimorfismo *GSTM1* e que apresentavam polimorfismo, portanto *GSTM1* nulo foram, respectivamente, 49,0 e 51,0% no grupo casos; e 49,7 e 50,3% no grupo controle ($p=0,4896$).

Os dados obtidos por meio da meta-análise mostraram que não houve correlação entre o polimorfismo nulo de *GSTM1* e o risco de desenvolver o câncer de mama (OR: 0,967; IC95% 0,883–1,060). Os estudos que apresentaram maior e menor peso na meta-análise foram, respectivamente, Egan et al.⁷ (Peso=143,8) e Possuelo et al.⁶ (Peso=5,8). O valor do peso de cada estudo na meta-análise foi avaliado levando em consideração o número de indivíduos incluídos em cada estudo, Egan et al.⁷ contou com 497 indivíduos, enquanto Possuelo et al.⁶ avaliou um total de 20 indivíduos. Todos os dados por estudo e combinados podem ser visualizados na Figura 1.

Discussão

Este estudo demonstra que vários trabalhos publicados na literatura avaliaram a relação entre o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* e o desenvolvimento do câncer de mama. Porém, na grande maioria, esta correlação não apresenta resultados estatisticamente significativos^{7,10}.

A Tabela 1 apresenta a frequência do polimorfismo *GSTM1* nulo para todos os estudos avaliados. Na análise combinada destes estudos, verificou-se que o número de indivíduos que apresentaram o polimorfismo nulo de *GSTM1* foi semelhante tanto para o grupo de casos quanto para o de controles (Casos: 51,0%; Controle: 50,3%). Resultados semelhantes foram observados por García-Closas et al.¹¹, que encontraram respectivamente para casos e controles as frequências de 49,9 e 48,9%.

Os valores obtidos para Odds Ratio (OR), ou seja, a razão entre a probabilidade de um evento ocorrer ou não, foi de 0,967. Este resultado indica que a probabilidade dos indivíduos não apresentarem o polimorfismo nulo do gene *GSTM1* é maior em indivíduos que não apresentam câncer de mama do que em pacientes com esta neoplasia. Contudo, Possuelo et al.⁶ relataram que, em seus estudos, mulheres com uma máxima proporção de gene *GSTM1* nulo tiveram câncer de mama (OR: 0,400) (Figura 1).

Vários fatores estão associados com a maior susceptibilidade de desenvolver o câncer de mama¹². Por exemplo, mulheres que apresentam a primeira menarca antes dos 12 anos, primeira gestação depois dos 26 anos e aquelas que possuem um parente de 1º grau com algum tipo de neoplasia. Na tentativa de associar a neoplasia ao aleitamento materno, foi demonstrado que mulheres que amamentaram por um maior período de tempo apresentavam uma menor chance de desenvolver o câncer¹².

O consumo de tabaco pelas mulheres tem crescido imensamente nos últimos anos e, conseqüentemente, motivado uma grande atenção das instituições de saúde, com o intuito de alertar sobre o impacto negativo que o uso do mesmo pode acarretar na saúde da mulher¹⁸. Ainda assim, o uso de cigarros por mulheres durante 20 anos ou mais vem sendo o principal fator associado ao desenvolvimento do câncer de mama¹².

Outro ponto que pode ser relevante em relação ao desenvolvimento de cânceres em mulheres é a tentativa de associar o gene *GSTM1*-nulo com mulheres em período de pré e pós-menopausa. Esta associação foi observada por Mitrunen et al.¹⁷ que

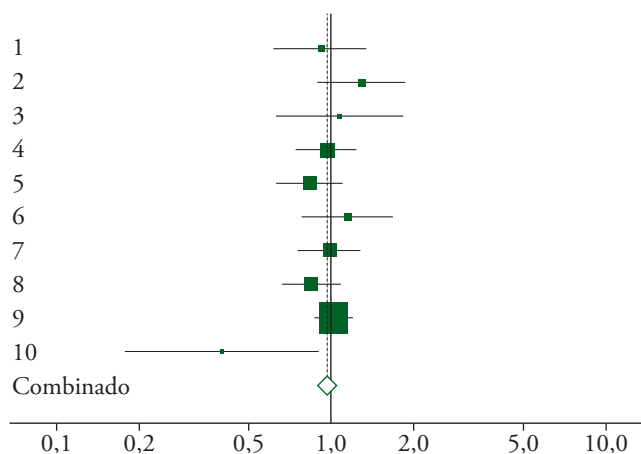


Figura 1. Meta-análise do polimorfismo nulo do gene *GSTM1* e a susceptibilidade ao câncer de mama.

Tabela 1. Estudos incluídos na avaliação do papel do polimorfismo nulo do gene *GSTM1* e a susceptibilidade ao câncer de mama

Autor	Ano	Local	Caso				Total	Controle				OR	IC95%		
			GSTM1(+)		GSTM1(-)			GSTM1(+)		GSTM1(-)					
			n	f(%)	n	f(%)		n	f(%)	n	f(%)				
1	Ambrosone ¹³	1995	EUA	84	47,5	93	52,5	177	115	49,6	117	50,4	232	0,919	0,621–1,359
2	Bailey ⁴	1998	EUA	112	50,2	111	49,8	223	97	43,9	124	56,1	221	1,290	0,888–1,874
3	Ambrosone ¹⁵	1999	EUA	53	50,5	52	49,5	105	52	48,6	55	51,4	107	1,078	0,629–1,847
4	García-Closas ¹¹	1999	EUA	233	50,1	232	49,9	465	237	51,1	227	48,9	464	0,962	0,744–1,244
5	Charrier ¹⁶	1999	França	160	44,3	201	55,7	361	213	48,7	224	51,3	437	0,837	0,633–1,107
6	Millikan ¹²	2000	EUA	197	74,9	66	25,1	263	187	72,2	72	27,8	259	1,149	0,779–1,696
7	Gudmundsdottir ¹⁰	2001	Islândia	227	45,4	273	54,6	500	181	45,8	214	54,2	395	0,983	0,754–1,281
8	Mitrunen ¹⁷	2001	Itália	260	54,1	221	45,9	481	278	58,2	200	41,8	478	0,846	0,656–1,093
9	Egan ⁷	2004	China	497	43,8	638	56,2	1135	523	43,4	683	56,6	1206	1,017	0,864–1,198
10	Possuelo ⁶	2013	Brasil	20	40,8	29	59,2	49	31	63,3	18	36,7	49	0,400	0,178–0,903
Combinado				1843	49,0	1916	51,0	3759	1914	49,7	1934	50,3	3848	0,967	0,883–1,060

f(%): frequência em porcentagem; OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança.

identificaram uma frequência maior do gene nulo em mulheres no período pré-menopausa quando comparadas com mulheres em pós-menopausa.

A partir de todos os dados coletados e analisados, o gene *GSTM1*-nulo não se mostrou um bom marcador genético para o câncer de mama. Portanto, os dados deste estudo demonstram que este marcador não deverá ser utilizado para avaliar a suscetibilidade ao câncer de mama. Atualmente, polimorfismos nos genes *BRCA1* e *BRCA2* são os principais marcadores estudados em câncer de mama, sendo encontrados com maior frequência em mulheres com a doença¹⁹.

Apesar do polimorfismo nulo de *GSTM1* não ter sido associado ao desenvolvimento da neoplasia de mama neste trabalho, a associação deste polimorfismo ao prognóstico da doença ainda não foi extensamente avaliada e se mostra conflitante entre os estudos. No entanto, alguns estudos já demonstram associações significativas entre outros polimorfismos em genes que codificam as glutionas S-transferase e o prognóstico de neoplasias mamárias^{20,21}.

Os resultados do presente estudo mostram que não houve aumento da suscetibilidade ao câncer de mama nas mulheres que apresentam o gene *GSTM1*-nulo e que outros fatores podem apresentar maior importância quando associados ao desenvolvimento desta neoplasia. Entretanto, a identificação de um maior número de polimorfismos que possam estar associados ao câncer de mama se torna cada vez mais necessária para que o médico faça um diagnóstico precoce, o que poderia amenizar as consequências futuras desta doença. Assim, novos estudos devem ser realizados, utilizando um número maior de indivíduos, de forma a se buscar resultados que ampliem os conhecimentos genéticos que envolvem a gênese do câncer de mama, bem como fatores que auxiliem no diagnóstico, no prognóstico e nas estratégias terapêuticas desta patologia.

Referências

- Oliveira AL, Rodrigues FFO, Santos RE, Rozenowicz RL, Barbosa de Melo M. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms as a prognostic factor in women with breast cancer. *Genet Mol Res*. 2014;13(2):2521-30.
- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa/2014 Incidência de Câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro; 2014. [cited 2014 Nov 17]. Available from: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>
- Aguiar ES de, Giacomazzi J, Schmidt AV, Bock H, Saraiva-Pereira ML, Schuler-Faccini L, et al. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. *Rev Bras Epidemiol*. 2012;15(2):246-55.
- Inumaru LE, Silveira ÉA da, Naves MMV. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. *Cad Saúde Pública*. 2011;27(7):1259-70.
- Duggan C, Ballard-Barbash R, Baumgartner RN, Baumgartner KB, Bernstein L, McTiernan A. Associations between null mutations in GSTT1 and GSTM1, the GSTP1 Ile(105)Val polymorphism, and mortality in breast cancer survivors. *Springerplus*. 2013;2:450.
- Possuelo LG, Peraça CF, Eisenhardt MF, Dotto ML, Cappelletti L, Foletto E, et al. Polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 genes in breast cancer susceptibility: a case-control study. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013;35(12):569-74.
- Egan KM, Cai Q, Shu X, Jin F, Zhu TL, Dai Q, Gao YT, et al. Genetic Polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the Risk for Breast Cancer: Results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13:197-204.
- Leme CVD, Raposo LS, Ruiz MT, Biselli JM, Galbiatti ALS, Maniglia JV, et al. Análise dos genes GSTM1 e GSTT1 em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. *Rev Assoc Med Bras*. 2010;56(3):299-303.
- Santos EJP, Cunha M. Interpretação Crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. *Millennium*. 2013;44:85-98.
- Gudmundsdottir K, Tryggvadottir L, Eyfjord JE. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 Genotypes in Relation to Breast Cancer Risk and Frequency of Mutations in the p53 Gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10:1169-73.
- García-Closas M, Kelsey KT, Hankinson SE, Spiegelman D, Springer K, Willett WC, et al. Glutathione S-transferase mu and theta polymorphisms and breast cancer susceptibility. *J Natl Cancer Inst*. 1999 Nov 17;91(22):1960-4.
- Millikan R, Pittman G, Tse C, Savitz DA, Newman B, Bell D. Glutathione S-Transferases M1, T1, and P1 and Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9(6):567-73.
- Ambrosone CB, Freudenheim JL, Graham S, Marshall JR, Vena JE, Brasure JR, et al. Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Res*. 1995;55(16):3483-5.
- Bailey LR, Roodi N, Verrier CS, Yee CJ, Dupont WD, Parl FF. Breast cancer and CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. *Cancer Res*. 1998;58:65-70.
- Ambrosone CB, Coles BF, Freudenheim JL, Shields PG. Glutathione S-transferase (GSTM1) genetic polymorphisms do not affect human breast cancer risk, regardless of dietary antioxidants. *J. Nutr*. 1999;129:565S-568S.
- Charrier J, Maugard CM, Le Mevel B, Bignon YJ. Allelotype influence at glutathione S-transferase M1 locus on breast cancer susceptibility. *Br J Cancer*. 1999;79:346-53
- Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Benhamou S, et al. Polymorphisms and Susceptibility to Breast Cancer Glutathione S-Transferase M1, M3, P1, and T1 Genetic Polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10:229-36.
- Maria E, Lombardi S, Prado GF, Santos UDP, Leon F, Fernandes A. O tabagismo e a mulher: Riscos, impactos e desafios. *J Bras Pneumol*. 2011;37(1):118-28.
- Seong M-W, Cho SI, Kim KH, Chung IY, Kang E, Lee JW, et al. A multi-institutional study of the prevalence of BRCA1 and BRCA2 large genomic rearrangements in familial breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2014;14(1):645.
- Liu J, Luo J, Wang Y, Li L, Yang S. Predictive potential role of glutathione S-transferases polymorphisms on prognosis of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(12):8935-40.
- Bai YL, Zhou B, Jing XY, Zhang B, Huo XQ, Ma C, He JM. Predictive role of GSTs on the prognosis of breast cancer patients with neoadjuvant chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(10):5019-22.