



## POLIMORFISMO rs1800566 DO GENE NQO1 E CÂNCER CERVICAL EM MULHERES DO SUL DO BRASIL

Thamara Santos de Almeida<sup>1</sup>  
Daniel Simon<sup>2</sup>

### Resumo

O câncer cervical (CC) é o terceiro tumor mais comum na população feminina do mundo inteiro. O principal fator etiológico no CC é a infecção pelo papilomavírus humano (HPV). Entretanto, estudos anteriores demonstram que fatores comportamentais e genéticos tem influência na persistência do vírus e na progressão para o câncer. Polimorfismos no gene NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1 (NQO1) foram associados com a suscetibilidade a vários tipos de câncer, incluindo o câncer cervical. Esse estudo teve como objetivo investigar a associação do polimorfismo rs1800566 com o desenvolvimento de CC em mulheres. Um total de 96 mulheres com CC foi selecionado durante o tratamento no Centro de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia localizado na cidade de Ijuí, RS. O grupo controle foi composto por 224 mulheres sem câncer cervical, sendo 67 positivas e 157 negativas para a infecção por HPV. O DNA foi extraído e amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), digerido com enzima de restrição *HinfI* e visualizado através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata. Na análise do polimorfismo rs1800566, as frequências dos alelos Pro e Ser foram de 73,4% e 26,6%, respectivamente. Observou-se uma proporção ligeiramente superior de Pro/Pro no grupo controle (58,5%) em comparação com os casos (49,0%), atingindo uma diferença tangencial à significância ( $p=0,070$ ).

Palavras chave: HPV; Papilomavírus humano; SNP.

### INTRODUÇÃO

Estudos apontam que o câncer de colo de útero (CC) afeta mais de 500 mil mulheres por ano e causa 270 mil mortes no mundo. É causado pela infecção persistente por tipos carcinogênicos do papilomavírus humano (HPV) (KHENCHOUCHE, 2013). É o terceiro tumor mais frequente na população feminina, atrás do câncer de mama e do colorretal, e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil (INCA, 2014).

Vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do genoma humano têm sido associados ao CC. Estes SNPs estão presentes em genes de diferentes vias celulares, tais como a degradação e a regulação das proteínas supressores do tumor, inflamação, apoptose e regulação do ciclo celular (WANG et al., 2009; WANG et al., 2010).

A enzima NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1 é produzida pelo gene NQO1, ela está envolvida na proteção contra o estresse oxidativo e carcinogênese (TSENG, 2009). O SNP rs1800566 provoca uma modificação C>T na posição 609 e uma consequente alteração do aminoácido prolina pelo aminoácido serina, resultando em uma atividade enzimática reduzida (TRAVER et al., 1997). Esse estudo teve como objetivo investigar a associação do polimorfismo rs1800566 com o desenvolvimento de CC em mulheres.

---

1 Aluna do curso em Ciências Biológicas, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS – Bolsista PROBITI/FAPERGS – thamara.almeida231@hotmail.com

2 Professor do curso de graduação em Ciências Biológicas e Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – daniel.simon@ulbra.br

## **METODOLOGIA**

O estudo foi conduzido com mulheres do sul do Brasil. Foram incluídos 96 casos de mulheres selecionadas durante o tratamento no Centro de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia entre 2012 e 2014. Este centro de assistência está localizado na cidade de Ijuí e trata mulheres das regiões noroeste e centro do estado do Rio Grande do Sul. O grupo controle foi composto por mulheres de dois estudos transversais anteriores. Destas, 224 mulheres (67 positivas e 157 negativas para a infecção por HPV) com citologia normal foram selecionadas por correspondência da idade com os casos. Pelo menos dois controles para cada caso foram selecionados, com a inclusão de um número significativo de mulheres HPV positivas. As amostras foram coletadas a partir de esfregaço da mucosa bucal ou do colo do útero utilizando cytobrush e armazenadas em uma solução tampão (pH 8,0 EDTA 0,01 M, SDS 0,03 M) a -20 °C até a análise. O DNA foi extraído como descrito anteriormente (COSER et al., 2013). Um fragmento do gene NQO1 de 267 pares de bases (pb) foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR). As condições dos ciclos de amplificação foram: desnaturação inicial a 94 °C durante 5 minutos, 45 ciclos de 94 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 30 segundos e 72 °C durante 30 segundos. O polimorfismo de NQO1 foi determinado por digestão do fragmento amplificado com a enzima de restrição *Hinfl* e posteriormente checado em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata. O alelo Ser foi clivado duas vezes, gerando três fragmentos de 165 bp, 55 pb e 47 bp. O alelo Pro alelo foi clivado uma vez, gerando dois fragmentos de 220 bp e 47 bp.

A análise dos dados foi realizada utilizando o software SPSS versão 17.0 (SPSS Inc., EUA). As frequências alélicas foram determinadas pela contagem no gel. Distribuições genótípicas foram examinadas para desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg através do teste de qui-quadrado. Comparações das frequências alélicas e genótípicas entre os grupos foram realizadas utilizando o teste de qui-quadrado. Os resultados dos testes com um  $P < 0,05$  foram considerados como sendo estatisticamente significativos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os 96 pacientes (grupo caso) eram de 57 cidades diferentes, localizadas nas regiões Centro e Noroeste do Rio Grande do Sul. Informações da histologia do tumor foram obtidas de 75 pacientes, 64 (85,3%) tiveram carcinoma de células escamosas (CEC), enquanto 11 (14,7%) adenocarcinoma (AC). Histerectomia total ou parcial foi realizada em 60 (62,5%) das 94 pacientes. Entre os outros tratamentos, radioterapia foi a mais frequente (92,7%), seguido por braquiterapia (88,5%) e quimioterapia (78,1%).

Na comparação das idades entre os grupos caso e controle, as pacientes com CC eram ligeiramente mais velhas ( $49,8 \pm 13,7$  anos) do que as mulheres com citologia normal ( $47,6 \pm 11,9$  anos), contudo não havendo diferença significativa entre os grupos ( $p=0,199$ ).

Os resultados da análise do polimorfismo rs1800566 mostraram que as frequências dos alelos Pro e Ser foram de 73,4% e 26,6%, respectivamente (Tabela 1). O alelo Pro foi o mais frequente nos casos (71,4%) e nos controles (74,3%), não havendo diferença significativa entre os grupos ( $p=0,435$ ). O genótipo Pro/Pro foi o mais frequente (55,6%), seguido pelos genótipos Pro/Ser (35,6%) e Ser/Ser (8,8%). Observou-se uma proporção ligeiramente superior do genótipo Pro/Pro no grupo controle (58,5%) em comparação com os casos (49,0%), atingindo uma diferença tangencial à significância ( $p=0,070$ ).

Tabela 1: Genótipos do polimorfismo rs1800566 do gene NQO1 na amostra estudada

|                  | <b>Casos</b> | <b>Controles</b> | <b>Total</b> | <b>p</b> |
|------------------|--------------|------------------|--------------|----------|
| <b>Alelos</b>    |              |                  |              | 0,435    |
| Pro              | 137 (71,4)   | 333 (74,3)       | 470 (73,4)   |          |
| Ser              | 55 (28,6)    | 115 (25,7)       | 170 (26,6)   |          |
| <b>Genótipos</b> |              |                  |              | 0,070    |
| Pro/Pro          | 47 (49,0)    | 131 (58,5)       | 178 (55,6)   |          |
| Pro/Ser          | 43 (44,8)    | 71 (31,7)        | 114 (35,6)   |          |
| Ser/Ser          | 6 (6,3)      | 22 (9,8)         | 28 (8,8)     |          |

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo não mostram associação do polimorfismo rs1800566 do gene NQO1 com o desenvolvimento de câncer cervical.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

## REFERÊNCIAS

- COSER, J.; ROCHA, B. T.; SIMON, D.; KAZANTZI, A.S.; IKUTA, N.; LUNGE, V.R. Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 4276-4285. Fev. 2013.
- INCA. Colo do útero. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2014. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo\\_uterio/definicao](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/definicao)>. Acesso em 10 Jul. 2015.
- TOMMASINO, M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. **Seminars in Cancer Biology**, Philadelphia, v.26, p. 13–21. Jun, 2014
- TRAVER, R.D.; SIEGEL, D.; BEALL, H.D.; PHILLIPS, R.M.; GIBSON, N.W.; FRANKLIN, W.A.; ROSS, D. Characterization of a polymorphism in NAD(P)H:quinoneoxidoreductase (DT-diaphorase). **British Journal of Cancer**, Londres. n.75, p. 69-75. Jan. 1997
- TSENG, L.M.; YIN, P.H.; TSAI, Y.F.; CHI, C.W.; WU, C.W.; LEE, L.M.; LEE, H.C. Association between mitochondrial DNA 4,977 bp deletion and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 C609T polymorphism in human breast tissues. **Oncology Reports**, Taiwan, v. 21, n. 5, p. 1169-1174, Mai. 2003.
- KHENCHOUCHE A. et al. Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus Co-Infection in Cervical Carcinoma in Algerian Women. **Virology Journal**, Londres, v. 10, n. 1, p. 340, Nov. 2013

WANG, S.S. et al. Common Variants in Immune and DNA Repair Genes and Risk for Human Papillomavirus Persistence and Progression to Cervical Cancer. **The International Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 199, n. 1, p. 20-30, Jan. 2009

WANG, S.S. et al. Common Genetic Variants and Risk for HPV Persistence and Progression to Cervical Cancer. **Public Library of Science**, California, v. 5, n. 1, p. e8667, Jan. 2010

WANG, S.S.; HILDESHEIM, A. Viral and Host Factors in Human Papillomavirus Persistence and Progression. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, Oxford, p. 35-40. 2003