



## ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIANTES DO GENE HLA-G E O DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER CERVICAL EM PACIENTES DO INTERIOR DO RS

Robinson Dias Mello<sup>1</sup>

Daniel Simon<sup>2</sup>

### Resumo

O câncer cervical (CC) é a terceira forma mais comum de câncer que acomete mulheres mundialmente. A infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV) é o principal fator de risco para o seu desenvolvimento. O antígeno leucocitário humano G (HLA-G) é uma molécula envolvida em vários mecanismos imunossupressores, porém sua contribuição para a persistência do HPV e a progressão de lesões cervicais continua pouco explorada. Polimorfismo de Inserção/Deleção (Ins/Del) de 14 pares de bases (pb) na região 3' não traduzida do gene HLA-G foi associado com alterações na estabilidade do RNA mensageiro. O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação entre o polimorfismo Ins/Del 14pb e o desenvolvimento de CC. A amostra foi composta por 76 pacientes em tratamento de CC no Centro de Alta Complexidade em Oncologia de Ijuí/RS e 106 controles saudáveis. DNA genômico foi extraído e amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR). A amostra total do estudo apresenta idade média de  $49,0 \pm 12,5$  anos. As frequências genotípicas observadas para o polimorfismo nos casos foram: 26,3% Ins/Ins, 35,5% Ins/Del e 38,2% Del/Del; e nos controles foram: 16,0% Ins/Ins, 54,7% Ins/Del e 29,3% Del/Del. As frequências do alelo Ins foram similares nos casos e controles: 44,1% e 43,4%, respectivamente. Contudo foi observada uma frequência significativamente maior de heterozigotos no grupo controle comparado aos casos ( $p=0,03$ ). Em conclusão, foi observada associação entre o polimorfismo HLA-G 14pb Ins/Del e o desenvolvimento de CC, na amostra estudada.

Palavras chave: polimorfismo; papilomavírus humano; antígeno leucocitário humano.

### INTRODUÇÃO

O câncer cervical é a terceira forma mais comum de câncer que acomete mulheres em todo o mundo. A principal causa é a infecção persistente do papilomavírus humano (HPV). Embora a prevalência do HPV na população seja alta, a maioria das infecções é transitória e apenas uma pequena fração das mulheres infectadas desenvolve o câncer cervical (CHEN, 2015). No Brasil, foram estimados 15.590 novos casos de câncer cervical em 2014. Em 2011, o sistema de informação sobre mortalidade (SIM) notificou 5.160 mortes (INCA, 2014). Alguns estudos relatam um papel crítico dos mecanismos imunossupressores na promoção do câncer cervical induzido por HPV, suprimindo a capacidade do hospedeiro superar a infecção por HPV ou evitando a eliminação de células pré-cancerígenas e transformadas pelo HPV (GIMENES, 2014). O complexo principal de histocompatibilidade (MHC), referido como antígeno leucocitário humano (HLA) em humanos, é responsável pela apresentação de antígenos estranhos para o sistema imune e um provável participante na eliminação de células infectadas por vírus (HILDESHEIM, 2002). A expressão do HLA-G tem sido detectada em

---

1 Aluno do curso de Ciências Biológicas, ULBRA, Canoas, RS – Bolsista PIBIC/CNPq – eewdias@gmail.com

2 Professor do curso de Ciências Biológicas e PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS – daniel.simon@ulbra.br

uma ampla variedade de lesões tumorais e não detectada em tecidos normais. Essa expressão também tem sido detectada em tecidos cervicais com tumores e correlacionada com a progressão do câncer cervical (YANG, 2014). Entretanto, a possibilidade de que os polimorfismos do gene HLA-G e/ou a sua expressão proteica afetem a persistência da infecção pelo HPV e o risco de câncer do colo do útero continua pouco explorada (GIMENES, 2014).

## **METODOLOGIA**

O estudo é composto por amostras que se dividem em casos clínicos e controles. As amostras do grupo de casos clínicos foram coletadas de mulheres em tratamento para câncer cervical no Centro de Alta Complexidade em Oncologia de Ijuí – RS. O grupo controle foi composto por mulheres participantes de estudo transversal anteriormente realizado (COSER et al., 2013). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta e todas as pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O DNA genômico foi extraído de acordo com protocolo modificado de Lahiri & Nurnberger (1991) e amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) com primers descritos por Hviid et al. (2003). Os parâmetros utilizados no termociclador foram: 94°C por 3 minutos; 40 ciclos de 94°C por 10 segundos, 67°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos; e um passo final de extensão em 72°C por 5 minutos. Na sequência, os amplicons foram checados em gel de poliacrilamida 10%. Os tamanhos de bandas observadas em cada genótipo foram: 224 pares de bases (pb) para Ins/Ins; 224 e 210 pb para Ins/Del; e 210 pb para Del/Del. As frequências alélicas e genotípicas foram comparadas entre grupos através do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg serão avaliados pelo teste de qui-quadrado. Todos os testes foram bi-caudais. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um total de 182 participantes foi incluído no estudo com idade média de  $49,0 \pm 12,5$  anos. Foram analisados 76 casos de câncer cervical e 106 mulheres no grupo controle. As frequências alélicas e genotípicas observadas nos casos e no grupo controle estão representadas na Tabela 1. As frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg no grupo controle e na amostra total. As frequências do alelo Ins foram similares entre casos e controles: 44,1% e 43,4%, respectivamente. Contudo foi observada uma frequência significativamente maior de heterozigotos nos controles comparado aos casos ( $p=0,03$ ).

Gimenes et al. (2014) relataram que a inserção ou deleção de 14pb tem sido associado com a estabilidade do mRNA. O alelo Ins tem sido relacionado com a baixa expressão de HLA-G. Contudo, este alelo pode sofrer um *splicing* adicional que remove 92 bases, incluindo a região onde está localizado o alelo Del, produzindo transcritos mais estáveis. Assim, Rousseau et al. (2003) sugerem que esta região possa estar envolvida com mecanismos que controlam a regulação pós-transcricional de HLA-G e associadas a variantes alélicas.

Dentre alguns estudos recentes, Silva et al. (2013) analisaram polimorfismos localizados na região 3' não traduzida (3'-UTR) do gene HLA-G com a suscetibilidade de desenvolver carcinoma cervical em mulheres brasileiras. Em fumantes, o genótipo Del/Del foi associado como alelo de menor risco de câncer cervical, enquanto a presença do alelo Ins foi associada como maior risco de desenvolvimento de carcinoma e lesões intra-epiteliais. Por outro lado, o genótipo Ins/Del foi associado com o risco aumentado de desenvolver lesões intra-epiteliais em mulheres com histórico familiar de câncer.

Tabela 1: Frequências alélicas e genóticas do polimorfismo Ins/Del 14pb do gene HLA-G na amostra estudada

	Casos <i>n</i> (%)	Controles <i>n</i> (%)	Valor do p
Alelos			0,915
Ins	67 (44,1)	92 (43,4)	
Del	85 (55,9)	120 (56,6)	
<i>n</i>	152	212	
Genótipos			0,031
Ins/Ins	20 (26,3)	17 (16,0)	
Ins/Del	27 (35,5)	58 (54,7)	
Del/Del	29 (38,2)	31 (29,3)	
<i>n</i>	76	106	

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram a associação entre o polimorfismo HLA-G 14pb Ins/Del e o desenvolvimento de CC.

## AGRADECIMENTOS

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

## REFERÊNCIAS

- CHEN, D.; GYLLENSTEN, U. Lessons and implications from association studies and post-GWAS analyses of cervical cancer. *Trends Genet.*, Londres, v. 31, n. 1, p. 41-54, Jan. 2015.
- 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. *Genet. Mol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 4276-4285, Fev. 2013.
- GIMENES, F. et al. Human leukocyte antigen (HLA)-G and cervical cancer immunoediting: A candidate molecule for therapeutic intervention and prognostic biomarker? *Biochem. Biophys. Acta.*, Amsterdam, v. 1846, n. 2, p. 576-589, Dez. 2014.
- HILDESHEIM, A.; WANG, S.S. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res.*, Amsterdam, v. 89, n. 2, p. 229–240, Nov. 2002.
- HVIID, T. V.; HYLENIUS, S.; RORBYE, C.; NIELSEN, L.G. HLA-G allelic variants are associated with differences in the HLA-G mRNA isoform profile and HLA-G mRNA levels. *Immunogenetics.*, Berlim, v. 55, n. 2, p. 63-79, mai. 2003.
- 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.
- ROUSSEAU, P. et al. The 14 bp deletion-insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Hum. Immunol.*, Nova Iorque, v. 64, n. 11, p. 1005–1010, Nov. 2003.
- SILVA, I. D. et al. HLA-G 3'UTR polymorphisms in high grade and invasive cervico-vaginal cancer. *Hum. Immunol.*, Nova Iorque, v. 74, n. 4, p. 452–458, Abr. 2013.

YANG, Y.C.; CHANG, T.Y.; CHEN, T.C.; LIN, W.S.; CHANG, S.C.; LEE, Y.J. Human leucocyte antigen-G polymorphisms are associated with cervical squamous cell carcinoma risk in Taiwanese women. *Eur. J. Cancer.*, Oxford, v. 50, n. 2, p. 469–474, Jan. 2014.