



ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO SER501GLY DO GENE FANCA E O DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE COLO UTERINO

PATRÍCIA JAQUELINE STAHL¹
DANIEL SIMON²

Resumo

O câncer de colo uterino é um dos tumores malignos que mais afetam a população feminina em todo o mundo. Na maioria dos casos, o causador da enfermidade é o papilomavírus humano (HPV). O gene *Fanconi Anemia Complementation Group A* (FANCA) integra uma família gênica constituída, atualmente, por vários genes que estão associados a diferentes tipos de processos tumorais, incluindo o câncer de colo de útero. O FANCA tem como função principal manter o controle das atividades celulares. Este trabalho tem por objetivo analisar a associação entre o polimorfismo Ser501Gly (rs2239359) do gene FANCA e o câncer de colo de útero. A amostra foi composta por 95 pacientes em tratamento para câncer de colo uterino no Centro de Alta Complexidade em Oncologia de Ijuí – RS e 184 controles saudáveis. DNA genômico foi extraído e amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR). A amostra total do estudo apresenta idade média de $49,1 \pm 13,0$ anos. As frequências genotípicas observadas para o polimorfismo nos casos foram: 23,1% TT, 50,5% TC e 26,4% CC; e nos controles foram: 21,7% TT, 53,3% TC e 25,0% CC. As frequências alélicas foram semelhantes nos casos e controles. As frequências genotípicas do polimorfismo rs2239359 do gene FANCA não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os casos e os controles. Em conclusão, não foi observada associação entre o polimorfismo Ser501Gly (rs2239359) e o câncer de colo de útero.

Palavras-chave: Papilomavírus humano; polimorfismo; FANCA.

INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino é um dos tumores malignos que mais afetam a população feminina em todo o mundo (LI, 2016). Na grande maioria dos casos, o causador da enfermidade é o papilomavírus humano (HPV). A infecção genital por este vírus é muito frequente e não causa doença na maioria das vezes. No entanto, em alguns casos, podem ocorrer alterações celulares a partir da infecção persistente do HPV, que poderão evoluir para o câncer (HOSKINSA et al., 2012). No Brasil, foram estimados 16.340 novos casos de câncer cervical em 2016. Em 2013, o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) notificou 5.430 mortes (INCA, 2014).

O gene *Fanconi Anemia Complementation Group A* (FANCA) integra uma família gênica constituída, atualmente, por vários genes, tais como FANCB, FANCC, FANCD1 (ou

¹ Aluna do curso de graduação em Biomedicina, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS – Bolsista PROBIC/FAPERGS – patriciasthl8@gmail.com

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

BRCA2), FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCIJ (também conhecido como BRIP1), FANCL, FANCM e FANCN (também chamado de PALB2) (SOLOMON et al., 2015). Estes genes possuem uma relação direta com a Anemia de Fanconi (FA) (WANG et al., 2009) doença autossômica recessiva hereditária caracterizada pela instabilidade do genoma (AUERBACH, 2009). A FA é causada por mutações em um dos 15 genes da família gênica na via de FA (incluindo FANCA), cujos produtos desempenham papéis importantes na reparação de danos no DNA (KIM et al., 2011).

Além da relação com a Anemia de Fanconi, o que levou a caracterização da família, esses genes estão associados a diferentes outros tipos de processos tumorais, incluindo o câncer de colo de útero. O gene FANCA, responsável por codificar a proteína para o grupo A, localiza-se na região cromossômica 16q24.3, contendo 43 éxons que medem de 34 a 188 pares de bases (pb). O gene possui em seu tamanho total 79.110 pb e o RNA mensageiro mRNA contém 5.460 pb. O FANCA interage com proteínas citoplasmáticas, bem como com proteínas nucleares, entretanto, alguns dados sugerem que o gene tem uma função citoplasmática distinta, além da função nuclear. O gene codifica uma proteína que está envolvida no processo celular da via FA (SOLOMON et al., 2015). Contudo, pouco tem sido explorado sobre a regulação do FANCA, as interações proteína-proteína e sua localização nuclear (SOLOMON et al., 2015).

Há diversos polimorfismos associados ao gene FANCA. Um deles, o Ser501Gly (rs2239359) mostrou-se ter associação com o aumento do risco de câncer de colo uterino, no estudo realizado por WANG et al. (2009). Esse polimorfismo corresponde a uma troca do alelo T (timina) pelo alelo C (citosina), mudando o aminoácido codificado de serina para glicina, no códon 501. O polimorfismo tem sido pouco explorado até o momento, mesmo em outros contextos além da associação ao câncer de colo uterino (WANG et al., 2009).

O presente trabalho tem por objetivo analisar a associação entre o polimorfismo rs2239359 do gene FANCA e o câncer de colo de útero.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de caso-controle. As amostras do grupo de casos clínicos foram coletadas de mulheres em tratamento para câncer de colo uterino no Centro de Alta Complexidade em Oncologia de Ijuí – RS. O grupo controle foi constituído por mulheres participantes de um estudo transversal anteriormente realizado (COSER et al., 2013). A pesquisa foi aprovada 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). A genotipagem do polimorfismo Ser501Gly (rs2239359) foi realizada através da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*), utilizando-se ensaios já validados *TaqMan® SNP Genotyping Assay* (Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, Foster City, CA, EUA.), conforme as instruções do fabricante (número de identificação do ensaio: C__2590906_1_). As condições de amplificação foram: 60°C por 30 segundos, 95°C por 10 minutos (desnaturação inicial), 40 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60°C por 1 minuto (anelamento/extensão); e 60°C por 30 segundos. A amplificação foi realizada em termociclador StepOne Plus Real-Time PCR Systems. 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 278 participantes foi incluído no estudo, com idade média de $49,1 \pm 13,0$ anos. Do total de participantes, 94 eram casos de câncer de colo uterino e 184 mulheres, constituindo o grupo controle. Dos casos, 20,1% eram fumantes e 89,3% das participantes possuem filhos, conforme apresentado na Tabela 1. As frequências alélicas e genotípicas observadas nos casos e no grupo controle estão representadas na Tabela 2. As frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg no grupo controle e na amostra total. As frequências de ambos os alelos foram similares nos casos e controles. O alelo T apresentou a mesma frequência (48,4%) em casos e controles.

Outros estudos relacionados ao gene FANCA e ao polimorfismo investigaram a sua relação com outros tipos de tumores, tais como a Anemia de Fanconi, o câncer de mama e o câncer de ovário. O sequenciamento do gene FANCA em pacientes FA-A tem demonstrado inúmeras mutações e polimorfismos. Há uma diversidade significativa de mutações no gene FANCA, incluindo inserções, deleções e substituições nucleotídicas. À medida que o grande número de mutações e polimorfismos no gene FANCA tem sido identificado, o gene é considerado como hipermutável e altamente polimórfico, como descrevem SOLOMON et al. (2015).

WANG et al. (2009) realizaram um estudo de base populacional com 10.049 mulheres na Costa Rica, no qual foram identificados polimorfismos em 4 genes de reparo do DNA, incluindo o FANCA, e 2 genes de resposta imune (*IRF3* e *TLR2*) que foram associados

ao aumento do risco do câncer cervical, quando comparados com a distribuição dos genótipos desses polimorfismos em indivíduos controles aleatórios. O polimorfismo FANCA Ser501Gly (rs2239359) demonstrou, portanto, no estudo de WANG et al. (2009), um aumento do risco ao câncer de colo uterino. No entanto, nas amostras analisadas no presente estudo, as frequências dos genótipos do polimorfismo rs2239359 no gene FANCA não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os casos e os controles.

Tabela 1: Características das pacientes com câncer do colo uterino

Variável	Pacientes (<i>n</i> = 95)
Idade (anos)	49,9 ± 13,8
Fumo	
Fumantes	19 (20,1)
Não fumantes	75 (78,9)
Não informado	1 (1)
Possui filhos	89 (93,7)

Tabela 2: Frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo Ser501Gly (rs2239359) do gene FANCA na amostra estudada

	Casos <i>n</i> (%)	Controles <i>n</i> (%)	Valor do p
Alelos			1,000
T	92 (48,4)	178 (48,4)	
C	98 (51,6)	190 (51,6)	
<i>n</i>	190	368	
Genótipos			0,902
T/T	22 (23,1)	40 (21,7)	
T/C	48 (50,5)	98 (53,3)	
C/C	25 (26,4)	46 (25,0)	
<i>n</i>	95	184	

LIUA et al. (2016) analisaram 29 polimorfismos em 25 genes de reparação do DNA, envolvidos em diversos processos intracelulares para manter a integridade do genoma, incluindo o gene FANCA, em pacientes com câncer de colo de útero. Os autores não observaram associação do polimorfismo do gene FANCA e reportam associação entre o polimorfismo rs9350 do gene *EXO1* como fator preditivo para o processo tumoral estudado. Contudo, alegam que o estudo teve limitações, como o curto período de tempo e o tamanho da amostra, sendo necessário mais estudos para replicação dos resultados.

CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

O polimorfismo Ser501Gly (rs2239359) do gene FANCA não está associado ao câncer de colo uterino na amostra estudada.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

- AUERBACH, A. D. Fanconi Anemia and its Diagnosis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Nova Iorque, v. 668, n. 2, p. 4-10, Jul. 2009.
- 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. 2, p. 4-10, Jul. 2009.
- HOSKINSA, E. E. et al. The Fanconi Anemia Pathway Limits Human Papillomavirus Replication. *Journal of Virology*, Washington DC, v. 86, n. 15, p. 8131–8138, Ago. 2012.
- INCA. Colo do útero. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2016. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/definicao>. Acesso em: 20 Mai. 2016.
- KIM, Y. et al. Mutations of the SLX4 gene in Fanconi anemia. *Nature Genetics*, Nova Iorque, v. 43, n. 2, p. 142-146, Jan. 2011.
- LI, H.; WU, X.; CHENG, X. Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *Journal of Gynecological Oncology*, Shanghai, v. 27, n. 4, p. 27-43, Mai. 2016.
- LIUA, J. et al. Association of DNA repair gene polymorphisms with response to cisplatin-based concurrent chemoradiotherapy in patients with cervical carcinoma. *DNA Repair*, Chicago, v. 41, p. 69-72, Mai. 2016.
- SOLOMON, P. J. et al. A case report and literature review of Fanconi Anemia (FA) diagnosed by genetic testing. *Italian Journal of Pediatrics*, v. 41, n. 38, p. 38-41, Mai. 2015.
- 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 Journal of Infectious Diseases*, Rockville, v. 199, n. 1, p. 20-30, Jan. 2009.