



ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMO DO GENE DUT E O DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DO COLO UTERINO

Robinson Dias Mello¹
Daniel Simon²

Resumo

O câncer de colo do útero é a terceira forma mais comum de câncer que acomete mulheres mundialmente. Embora a infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV) seja considerada um fator de risco para o desenvolvimento do câncer, fatores genéticos podem desempenhar um papel importante. O gene deoxiuridina trifosfatase (DUT) codifica uma enzima que possui função de reparo no DNA. Estudos sugerem que o polimorfismo rs3784621 do gene DUT tem sido relacionado a um aumento de risco para o câncer de colo uterino. O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação entre este polimorfismo e o desenvolvimento de câncer do colo uterino. A amostra foi composta por 97 pacientes em tratamento para câncer de colo do útero no Centro de Alta Complexidade em Oncologia de Ijuí/RS e 192 controles saudáveis. O DNA genômico foi extraído e a genotipagem foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real utilizando sondas alelo-específicas. As frequências genotípicas observadas para o polimorfismo nos casos foram: 9,3% CC, 40,2% CT e 50,5% TT; e nos controles foram: 13,0% CC, 38,6% CT e 48,4% TT. As frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências genotípicas entre casos e controles. Em conclusão, não foi observada associação entre o polimorfismo e o desenvolvimento de câncer de colo uterino na amostra estudada.

Palavras-chave: polimorfismo; papilomavírus humano; deoxiuridina trifosfatase.

INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é considerado um agente causador do câncer de colo do útero e está associado a diversos outros cânceres genitais (MCNAMARA, 2016). O câncer de colo do útero é a terceira forma de câncer que mais acomete mulheres mundialmente, após o câncer de mama e o câncer colorretal. Embora seja constatado um decréscimo global das taxas de novos casos e mortes, ainda há um aumento constante de 0,5% dessas taxas por ano, devido ao envelhecimento da população (DENNY, 2015). No Brasil, são estimados 16.340 novos casos de câncer cervical em 2016. Em 2013, o sistema de informação sobre mortalidade (SIM) notificou 5.430 mortes (INCA, 2016). Além da persistência da infecção viral por HPV, estudos sugerem que fatores genéticos podem contribuir com o desenvolvimento do câncer de colo do útero (WANG, 2010). O gene deoxiuridina trifosfatase (DUT) está localizado no cromossomo 15, contém 8 éxons e codifica uma enzima que tem função na hidrólise de deoxiuridina trifosfatase (dUTP) em deoxiuridina monofosfatase (dUMP) e pirofosfatase (NCBI, 2016) e é crítico para a sobrevivência celular devido o excesso de dUTP ser incorporado ao DNA, levando ao reparo por excisão, quebra da molécula de DNA e morte celular. A codificação viral de DUT pode ter função no controle

1 Aluno do curso de graduação Ciências Biológicas, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS – Bolsista PIBIC/CNPq – eewdias@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, Canoas, RS – daniel.simon@ulbra.br

dos níveis locais de dUTP durante a replicação e na promoção da replicação viral nos tecidos de hospedeiros sem divisão celular (MCCLURE, 2001). O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs3784621, no gene DUT, foi relacionado a um aumento de risco para o câncer cervical (WANG, 2010). O presente estudo tem por objetivo avaliar a associação entre este polimorfismo e o desenvolvimento de câncer do colo uterino.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de caso-controle. 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). A amplificação e genotipagem do polimorfismo foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, em termociclador StepOne Plus Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, EUA), utilizando ensaios previamente validados (TaqMan® SNP Genotyping Assay, Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, EUA), conforme as instruções do fabricante (número de identificação do ensaio: C_27484975_10). Os parâmetros de amplificação foram os seguintes: 95°C por 10 minutos (desnaturação inicial), 40 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60°C por 1 minuto (anelamento/extensão). 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 289 participantes foi incluído no estudo com idade média de $49,1 \pm 12,9$ anos. 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. As frequências do alelo C foram similares entre casos e controles: 29,4% e 32,3%, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências genotípicas entre casos e controles ($p=0,676$).

Estudos anteriores relataram diferentes níveis de expressão do gene DUT em outros tipos de tumores. Wilson et al. (2012) analisaram a expressão da proteína dUTPase e do RNA mensageiro (mRNA) em carcinoma de pulmão de células não-pequenas e encontraram um aumento de 38 vezes na expressão nuclear de dUTPase e, com relação a expressão mitocondrial, um aumento de 18 vezes. Os estudos realizados por Nobili et al. (2011) em pacientes com câncer colorretal relatam que em indivíduos cujo tumor apresentava um alto nível de expressão de DUT demonstravam uma tendência a ter uma sobrevida livre de doença curta. Takatori et al. (2010) sugerem que a expressão de dUTPase nuclear pode representar um bom marcador para prognóstico de sobrevida de pacientes com carcinoma hepatocelular após a ressecção cirúrgica.

Barry et al. (2011) avaliaram diversos polimorfismos do gene DUT em homens aplicadores de pesticidas com câncer de próstata. Quando analisado o polimorfismo rs3784621, foi constatado um risco significativo para o câncer de próstata em indivíduos aplicadores do pesticida Carbaril e que carregavam o alelo C. Já Wang et al. (2010), que analisaram pacientes com câncer de colo uterino, encontraram o polimorfismo do gene DUT

associado tanto com a persistência da infecção pelo HPV quanto com o desenvolvimento do câncer de colo uterino.

Tabela 1: Frequências alélicas e genótípicas do polimorfismo rs3784621 do gene DUT na amostra estudada

Polimorfismo rs3784621	Controles n (%)	Casos n (%)	p
Alelos			0,507
C	124 (32,3)	57 (29,4)	
T	260 (67,7)	137 (70,6)	
n	384	194	
Genótipos			0,676
CC	25 (13,0)	9 (9,3)	
CT	74 (38,6)	39 (40,2)	
TT	93 (48,4)	49 (50,5)	
n	192	97	

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo não mostram a associação entre o polimorfismo e o desenvolvimento de câncer do colo uterino.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- BARRY, K.H.; KOUTROS, S.; BERNDT, S.I.; et al. Genetic variation in base excision repair pathway genes, pesticide exposure, and prostate cancer risk. *Environ Health Perspect.*, Carolina do Norte. v. 119, n. 12, p. 1726-1732, Dez. 2011.
- 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.
- DENNY, L.; HERRERO, R.; LEVIN, C.; KIM, J.J. Cervical Cancer. In: GELBAND, H.; JHA, P.; SANKARANARAYANAN, R.; HORTON, S.; editores. *Cancer: Disease Control Priorities*, Terceira Edição. Washington: The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2015. Volume 3.
- 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: 24 mai. 2016.
- MCCLURE, M.A. Evolution of the DUT Gene: Horizontal Transfer between Host and Pathogen in all Three Domains of Life. *Current Protein and Peptide Science*, Flórida, v. 2, n. 4, p. 313–324, Dez. 2001.
- MCNAMARA, M.; BATUR, P.; WALSH, J.M.; JOHNSON, K.M. HPV Update: Vaccination, Screening, and Associated Disease. *J. Gen. Intern. Med.* No prelo.
- NCBI. DUT deoxyuridine triphosphatase [Homo sapiens (human)]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1854>>. Acesso em: 25 mai. 2016.

NOBILI, S.; NAPOLI, C.; LANDINI, I.; et al. Identification of potential pharmacogenomic markers of clinical efficacy of 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Int. J. Cancer.*, Heidelberg, v. 128, n. 8, p. 1935-1945, Abr. 2011.

TAKATORI, H.; YAMASHITA, T.; HONDA, M.; et al. dUTP pyrophosphatase expression correlates with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Liver Int.*, Malden, v. 30, n. 3, p. 438-446, Mar. 2010.

WANG, S.S.; GONZALEZ, P.; YU, K.; PORRAS, C.; LI, Q.; et al. Common Genetic Variants and Risk for HPV Persistence and Progression to Cervical Cancer. *PLoS ONE*, Califórnia, v. 5, n. 1, p. e8667, Jan. 2010.

WILSON, P.M.; LABONTE, M.J.; LENZ, H.J.; MACK, P.C.; LADNER, R.D. Inhibition of dUTPase induces synthetic lethality with thymidylate synthase-targeted therapies in non-small cell lung cancer. *Mol. Cancer Ther.*, Filadélfia, v. 11, n. 3, p. 616-628, Mar. 2012.