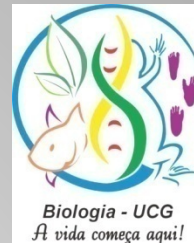




Universidade Católica de Goiás

Departamento de Biologia



A
T
T
C
G
A

O Polimorfismo do Gene CYP1A1 em Câncer de Cavidade Oral um estudo caso-controle.

Acadêmica: Caroline Dias Monteiro

Orientador: Prof. Aparecido Divino da Cruz, PhD

- Goiânia, outubro de 2009 -

C
G
A
A
T
T
C
C

T
G
G
C
A
C
C
G

A
A
T
A
A
A
T
G

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

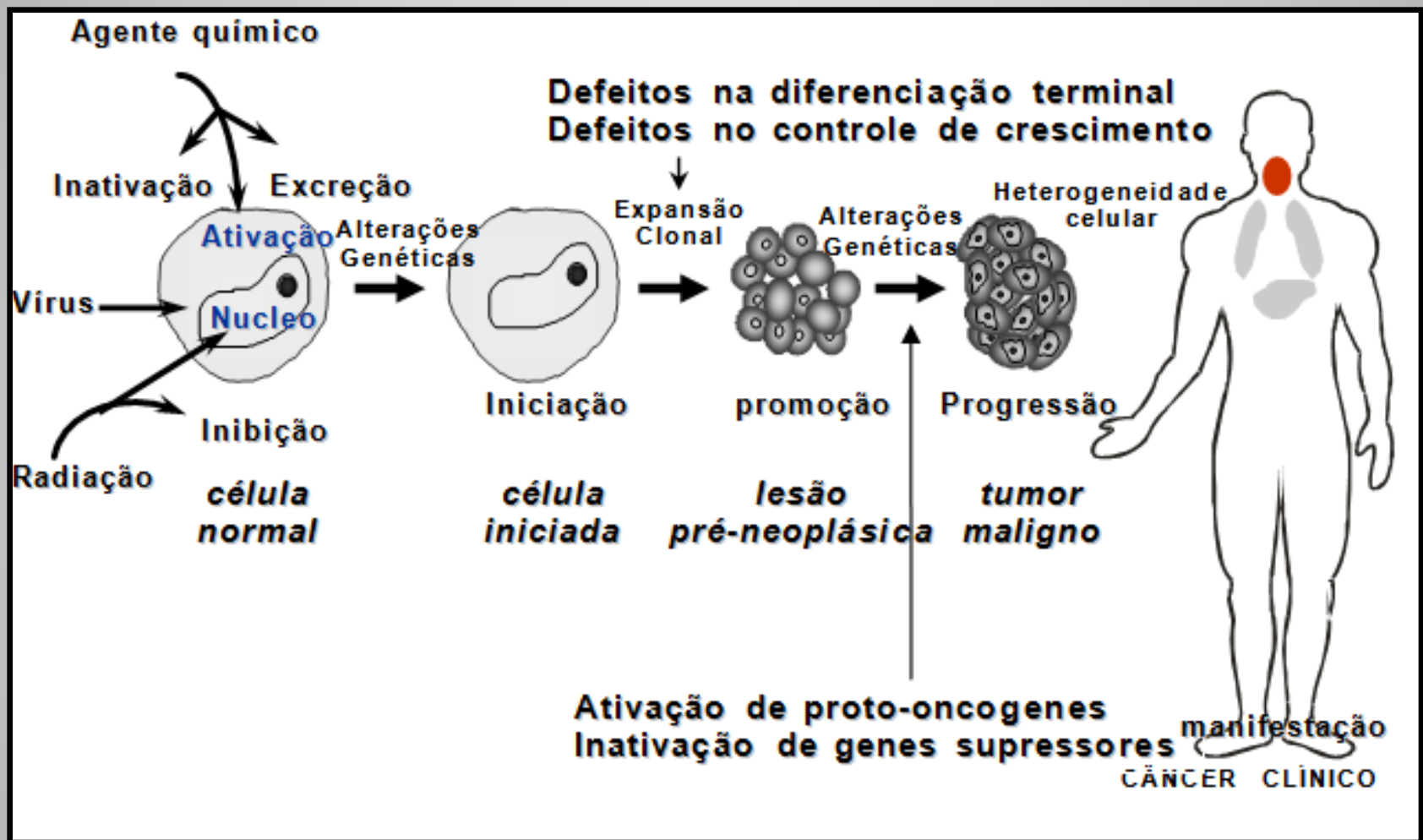


Figura 1- Mecanismo de carcinogênese (Adaptado de Ribeiro *et al.* 2003).

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Cânceres de boca e da orofaringe são os tipos mais comuns de câncer na região de cabeça e pescoço
- Principais fatores exógenos relacionados ao câncer de cabeça e pescoço : Álcool e Cigarro
- 262.000 óbitos por cânceres da cavidade oral por ano no mundo
- 83% países em desenvolvimento
- 3% de todas as doenças malignas masculinas e 2% de todas as doenças malignas femininas nos Estados Unidos.
- Em 1980, as neoplasias eram responsáveis por 10% dos óbitos no Brasil, em 2000 passou para 15%.

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- O gene *CYP1A1*, localizado no braço longo do cromossomo 15 (15q22-24) codifica para a isoforma CYP4501A1 que catalisa a oxidação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em produtos fenólicos e epóxidos.

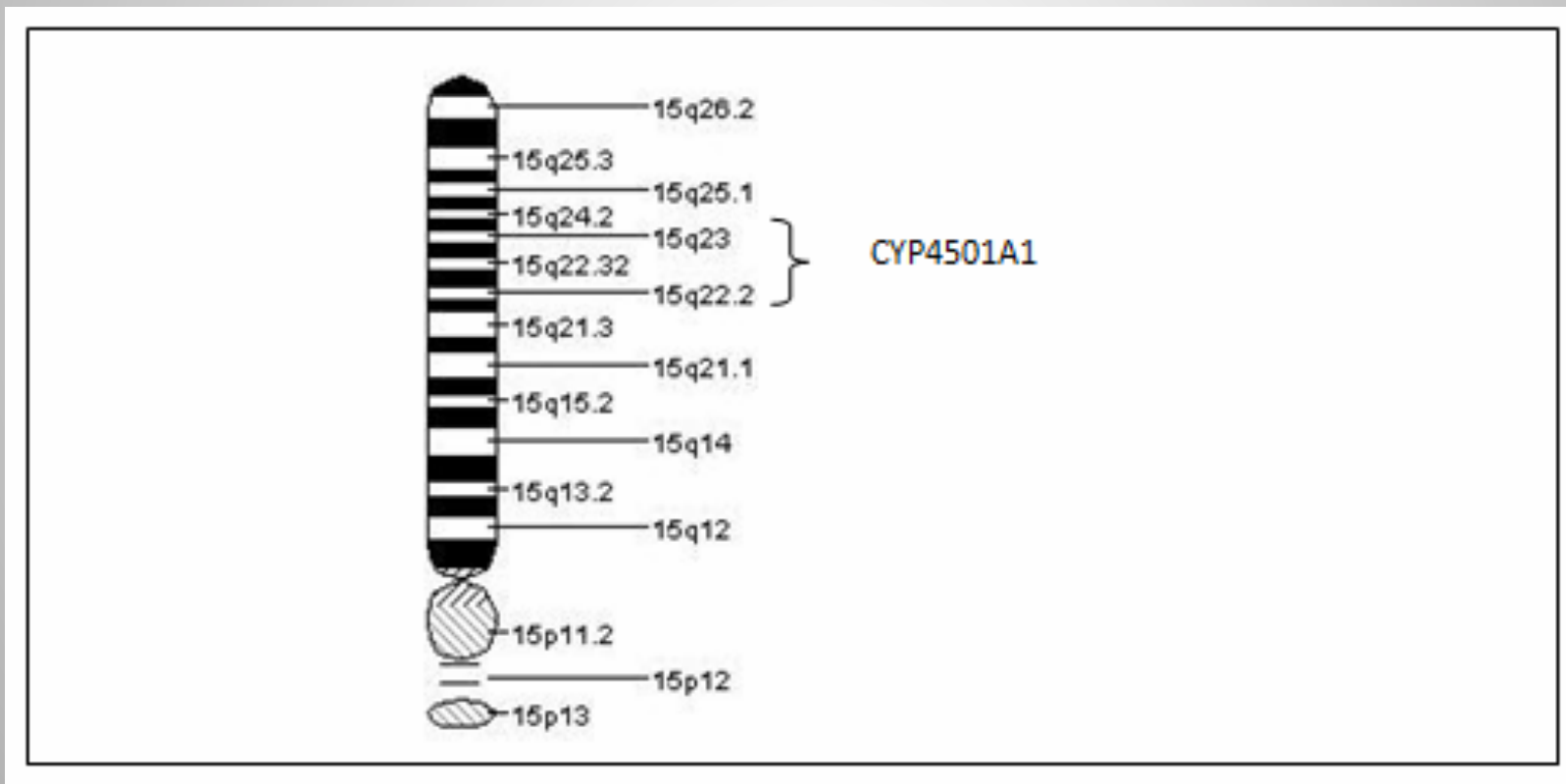


Figura 2. Gene *CYP1A1*, localizado no braço longo do cromossomo 15 (15q22-24).

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- A indução de CYPs pela ligação do composto ao receptor aril hidrocarboneto, leva a transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no biometabolismo.
- O uso de tabaco é normalmente associado com os cânceres de pulmão, boca, laringe, orofaringe, rins, trato urinário e possivelmente mama.
- Grande parte dos carcinógenos presentes no tabaco e na sua fumaça são convertidos em metabolitos reativos ao DNA pelas enzimas relacionadas ao CYP
- Grande parte dos carcinógenos presentes no tabaco e na sua fumaça são convertidos em metabolitos reativos ao DNA pelas enzimas relacionadas ao CYP
- *CYPm1* : Transição T \longrightarrow C no exón 7 do gene CYP1A1

OBJETIVOS

Gerais

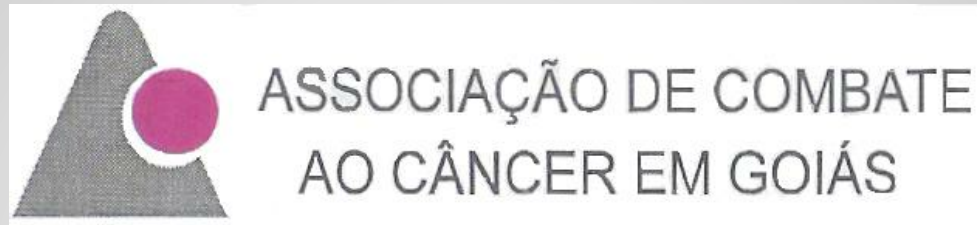
Analisar as frequências alélicas e genotípicas do gene $CYP1A1m1$, na tentativa de associá-los a carcinôgenese do carcinoma espinocelular de bucal.

OBJETIVOS

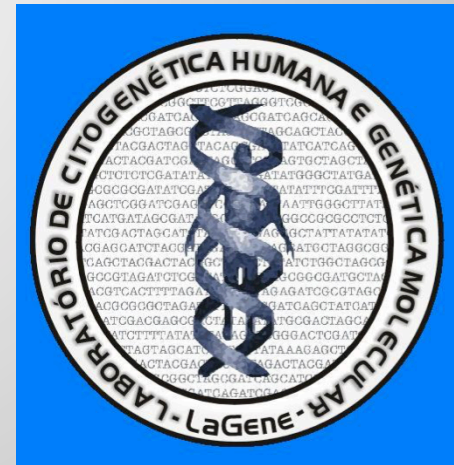
Objetivos Específicos

- Analisar o polimorfismo de *CYP1A1m1* em carcinoma da cavidade bucal, tendo em vista que este é um dos tipos mais comuns de câncer que acometem a região da cabeça e pescoço
- Correlacionar o câncer com a frequência de polimorfismo de *CYP1A1m1 na população estudada*
- Compreender melhor a biologia molecular dos tumores da cabeça e pescoço, com ênfase, o tumor de boca
- Elaborar e sugerir um possível critério de prognóstico baseado nos estudos moleculares no câncer
- Autocapacitar para o desenvolvimento do pensamento crítico-analítico necessário ao perfil científico
- Elaborar pôsteres e artigos científicos para publicação dos resultados obtidos e analisados
- Contribuir para a geração de conhecimentos e formação de pessoal qualificado, visando ao desenvolvimento científico e tecnológico do país.

MATERIAL E MÉTODOS



- IARC -



A
T
T
C
G
A
C
C
C
A
A
T
A
A
A
T
G

MATERIAL E MÉTODOS

CYP1A1m1

Tabela 1. Características gerais dos oligonucleotídeos utilizados para a avaliação genômica em pacientes com Câncer da Cavidade Oral.

Oligonucleotídeos	Seqüência	Polimorfismo	Produto	Referência
<i>CYP1A1 m1</i>	M1F: 5’CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT3’	3801 T>C	340pb	Hauashi <i>et al.</i> (1991)
	M1R: 5’TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT3’	(<i>MspI</i>) 140pb – 200pb		

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 2. Protocolo de termociclagem para a genotipagem de *CYP1A1ml*.

Etapas	Temperatura (°C)	Tempo (min.)	Ciclos
Desnaturação inicial	94	5	1
Desnaturação	94	30s	
Amplificação	56	45s	30
Extensão	72	1	
Extensão final	72	7	1
Armazenamento	4	∞	∞

MATERIAL E MÉTODOS

Os “*amplicons*” que apresentaram o fragmento de 340pb foram submetidos à técnica de PCR/RFLP. Para a digestão enzimática foram utilizados 25µL de solução, que continham água Mili-Q, 1X de tampão da enzima, 1U de *MspI* e 10µL de “*amplicon*”. Posteriormente, as amostras foram submetidas à digestão enzimática por 12h à 37°C. Para a visualização dos fragmentos digeridos, foram utilizadas as mesmas condições de eletroforese.

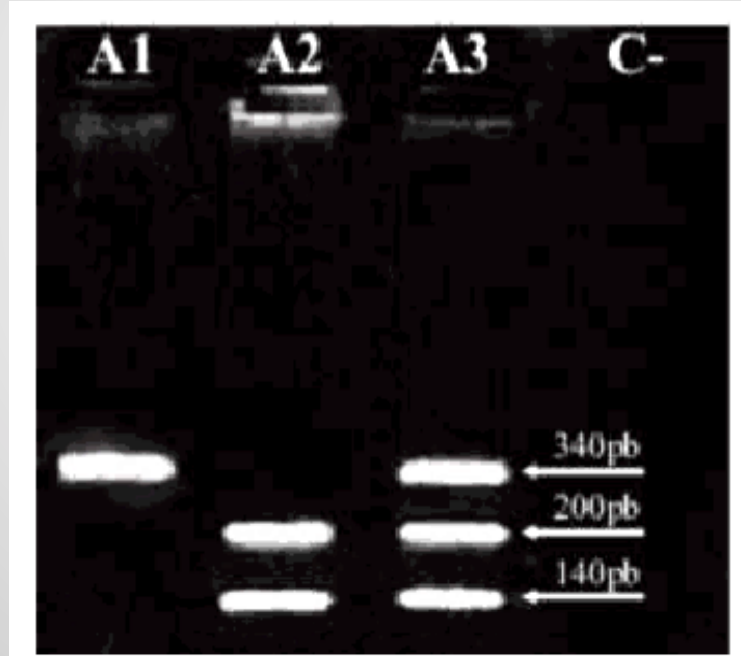


Figura 3. Gel de Agarose a 1.5% indicando o resultado da genotipagem do gene *CYP1A1m1*. homozigoto Selvagem T/T; homozigoto mutante C/C; heterozigotos T/C; C-: Controle negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

M = 59,2 (DP ±10,3) Casos

M = 56,6 (DP±9,6) Controles

Tabela 5. Distribuição dos dados sócios demográficos, quanto ao sexo, dos pacientes caso e controle

	Casos	Controles	X ²	GL	P
	n (%)	n (%)			
Sexo					
Feminino	16 (27,1)	7 (14,3)	0,442	2	0,80
Masculino	43 (72,9)	42(85,7)			
Total	59 (100)	49 (100)			

Tabela 6. Distribuição dos pacientes com carcinoma da cavidade oral, segundo as variáveis sócio-demográficas.

Variável sócio-demográfica	N	%
Idade		
< 60 anos	30	50,84
> 60 anos	29	49,15
Sexo		
Masculino	43	85,7
Feminino	16	14,3
Tabagismo		
Sim	51	86,44
Não	8	13,55
Etilismo		
Sim	51	86,44
Não	8	13,55
Etilismo e Tabagismo		
Sim	46	77,96
Não	13	22,03

Tabela 7. Distribuição das frequências alélicas entre as populações caso e controle.

<i>CYP1A1</i> ml	Caso		Controle		χ^2	GL	<i>P</i>
	%		%				
T	63		43		1,194	2	0,55
C	37		57				
Total	100		100				

Tabela 8. Distribuição das frequências genotípicas entre as populações caso e controle.

Genótipo	Caso		Controle		χ^2	GL	<i>P</i>
	Esperado	Observado	Esperado	Observado			
T/T	8,20	6	9,43	8	1,19	2	0,55
T/C	27,59	32	24,13	14			
C/C	23,20	21	15,43	27			
Total	59		49				

Tabela 9. Resultado do teste de *Odds Ratio* para a variante *CYP1A1m1*.

Variável	Genótipos	OR	IC 95%	<i>P</i>
Masculino	C/C x C/T	0,6250	0,0633-6,1714	0,90
	C/C x T/T	1,6827	0,4989-5,6757	0,59
	C/T x T/T	2,6923	0,2605-27,8220	0,72
Feminino	C/C x C/T	1,6000	0,1620-15,7988	0,90
	C/C x T/T	0,5943	0,1762-2,0045	0,59
	C/T x T/T	0,3714	0,0359-3,8383	0,72
Tabagistas	C/C x C/T	1,0800	0,1030-11,3196	0,58
	C/C x T/T	0,5684	0,0996-3,2441	0,82
	C/T x T/T	0,5263	ND	0,80
Etilistas	C/C x C/T	1,0800	0,1030-11,3196	0,58
	C/C x T/T	0,5684	0,0996-3,2441	0,82
	C/T x T/T	0,5263	ND	0,80
Tabagistas e Etilistas	C/C x C/T	1,7857	0,2689-11,8565	0,93
	C/C x T/T	0,8403	0,2126-3,3214	0,92
	C/T x T/T	0,4706	0,0626-3,5362	0,85

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- De acordo com o teste, o perfil genotípico não apresentou risco entre os pacientes com câncer da cavidade oral, nem mesmo quando associados às variáveis etilismo e tabagismo.
- Sato *et al.* (2000) encontraram associação entre este gene e o desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço, o que difere do observado
- Matthias *et al.* (1998) e Marques *et al.* (2006) que, assim como os dados deste trabalho, não correlacionaram o gene *CYP1A1* ao câncer de cabeça e pescoço, apesar dos genótipos considerados de risco terem sido mais freqüentes no grupo dos pacientes em relação ao dos controles.

CONCLUSÕES

- Não foram encontradas associações estatisticamente significativas das variantes alélicas e genotípicas *CYP1A1m1*
- A relação entre o desenvolvimento da doença e as variáveis sexo e hábitos tabagista e etilista também não apresentou diferença estatisticamente significativa.
- Estudos futuros com maior casuística combinados com outras topografias dos cânceres de cabeça e pescoço devem ser realizados para elucidar o papel da predisposição genética para o desenvolvimento do carcinoma de cavidade oral.

Agradecimentos.....

A
T
T
C
G
A
C
C
C
A
A
T
A
A
A
T
G