

## O PAPEL DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO NO GENE *NECTIN1* EM NÓDULOS TIREOIDIANOS

**Palavras-Chave:** herpesvírus, câncer de tireoide, nectina-1.

**Autores:** Ana Paula Andrade de Oliveira; Sabrina Eduarda Agesse; Elisângela de Souza Teixeira, Izabela Fernanda Dal' Bó; Matheus Nascimento; Karina Colombero Peres; Larissa Teodoro Rabi; Natassia Elena Bufalo; Laura Sterian Ward.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dra. Laura Sterian (FCM-UNICAMP)

**Instituição:** Laboratório de Genética Molecular do Câncer (GEMOCA)  
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP

---

### INTRODUÇÃO

A tireoide é uma glândula endócrina em formato de borboleta localizada na parte média do pescoço, responsável por produzir os hormônios T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina) que participam principalmente de processos relacionados com o metabolismo e fornecimento de energia para o corpo (Medeiros G, 2005).

Nódulos tireoidianos representam a maioria das neoplasias tireoidianas, fazendo com que o câncer de tireoide seja a neoplasia maligna mais comum do sistema endócrino. No Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022 são estimados cerca de 13.780 novos casos de câncer de tireoide, sendo 11.950 em mulheres e 1.830 em homens (INCA, 2020; YuJiao Deng et al.2020). Dentre os nódulos de origem nas células foliculares, o Carcinoma Diferenciado de Tireoide (CDT) é o tipo mais comum e é representado pelo Carcinoma Papilífero da Tireoide (CPT) e pelo Carcinoma Folicular da Tireoide (CFT), que juntos, representam mais de 90% de todas as malignidades tireoidianas (FERREIRA, RLZ, et al. 2017).

Dentre os fatores de risco associados as neoplasias tireoidianas a exposição a agentes biológicos, como os vírus, em especial da família dos herpesvírus vem sendo investigados, inclusive com estudos do nosso grupo (ALMEIDA JFM, 2017; ALMEIDA JFM, 2019 e ALMEIDA JFM, 2020).

Os vírus da família *Herpesviridae*, uma família com mais de 100 espécies, e que até o hoje, apenas oito foram associados por estabelecer infecção em humanos (Martinho, Ana et al. 2004). Nossa atenção se volta em especial ao Herpes Simplex Vírus tipo 2 (HSV-2), também conhecido como herpes genital, um vírus da subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Simplexvirus* e que estabelece uma infecção latente, vitalícia e incurável, nas células nervosas e epiteliais (MAURO GELLER et al. 2012).

Estruturalmente, o HSV-2 é um vírus envelopado onde seu genoma de DNA expressa glicoproteínas do envelope que se ligam aos receptores da célula hospedeira participando ativamente no processo de entrada desses vírus (SANTOS, MPM et al. 2012; ALMEIDA, NAA. 2018). Onze glicoproteínas são codificadas pelo genoma do HSV-2, porém apenas 5 (gB, gC, gD, gH e gL) auxiliam no processo de entrada (CARVALHO, ABG et al. 2020; SILVA DAS et al. 2011).

Dentre as 5 glicoproteínas, a gD é conhecida por ser necessária para iniciar entrada viral. gD se liga a três classes de receptor, inclusive as nectinas, uma família de quatro proteínas da superfamília das imunoglobulinas que participam em diferentes funções celulares, principalmente na adesão celular e na interação patógeno hospedeiro. A Nectina-1, codificada pelo gene *NECTIN1*, além de participar na adesão celular é identificada como sendo o principal receptor de herpesvirus em neurônios e em células epiteliais, auxiliando na entrada através da sua interação com as glicoproteínas do envelope, participando da fusão do envelope viral na membrana plasmática da célula (SARAH A, et al. 2021).

Estudos recentes associam a desregulação na expressão de nectina-1 em tumores malignos, sugerindo um papel na progressão tumoral e em uma maior suscetibilidade à infecção por herpesvírus (JOHNSTON RJ. 2021; GIOVINE, Paulo D. et al. 2011). No entanto, pouco se sabe sobre o efeito de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP) do tipo Missense no gene *NECTIN1* e sua potencial relação na infecção por HSV e no câncer, em especial no câncer de tireoide.

As alterações gênicas podem potencialmente interromper a função, modular a ativação ou transcrição do gene, entretanto, o papel funcional e significado clínico de polimorfismos de *NECTIN1* no câncer não é conhecido. Essas variações como os foram identificados inúmeros SNPs no gene *NECTIN1*, porém pouco se sabe sobre o papel desses polimorfismos no câncer de tireoide.

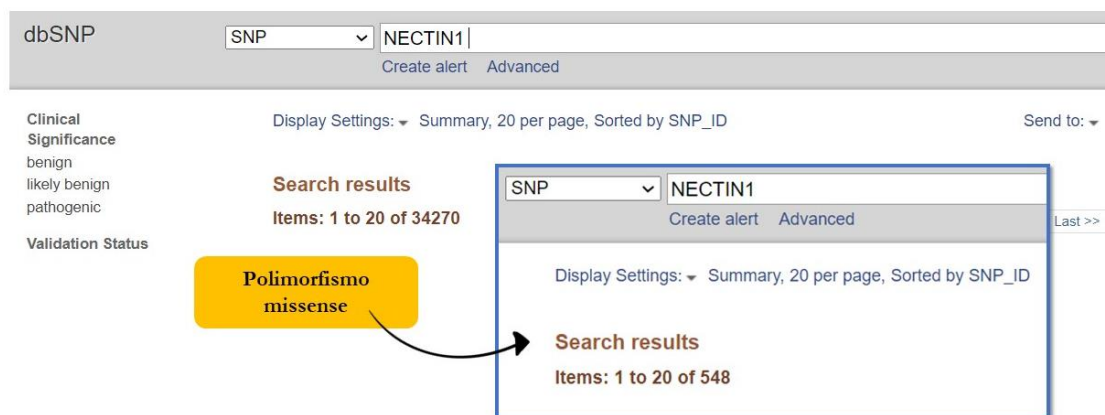
Deste modo, o presente trabalho tem como objetivo analisar os SNPs de *NECTIN1*, utilizando um conjunto de ferramentas de bioinformática para predição do impacto prejudicial desses polimorfismos sobre a função da proteína.

## **METODOLOGIA**

Para avaliar o efeito das substituições de aminoácido no impacto na função da proteína utilizamos as ferramentas SIFT BLINK, PROVEAN, PolyPhen2.0, SNAP2 e PANTHER; para analisar a probabilidade dos polimorfismos no desenvolvimento de doenças humanas utilizamos as ferramentas SNP&GO e PMut e para prever os efeitos das variantes na estabilidade da proteína utilizamos as ferramentas I-MUTANT2.0 e Mupro. A sequência FASTA da nectina-1 foi recuperada do banco de dados Uniprot (ID: Q15223) e os dados brutos referente ao gene *NECTIN1* foram acessados durante o mês de dezembro de 2021 no NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. (acesso:NP\_002846.3) e inseridos como dados de entrada nas ferramentas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No banco de dados dbSNP do NCBI identificamos 34.270 SNPs no gene *NECTIN1*, desses 548 eram missenses e então selecionados para o estudo morfofuncional (Figura1). O rsID de cada variante foi inserido como dado de entrada para o servidor SIFT e dos 548 avaliados, 33 SNPs foram classificados em deletérios com um índice de tolerância  $\leq 0,05$  e então selecionados para avaliação nas demais ferramentas computacionais.



The image shows a screenshot of the dbSNP search interface. At the top, there is a search bar with 'dbSNP' on the left, a dropdown menu set to 'SNP', and the text 'NECTIN1' in the input field. Below the search bar are links for 'Create alert' and 'Advanced'. On the left side, there is a 'Clinical Significance' section with options: 'benign', 'likely benign', and 'pathogenic', and a 'Validation Status' section. The main search results area shows 'Search results' and 'Items: 1 to 20 of 34270'. A yellow box with the text 'Polimorfismo missense' has an arrow pointing to a zoomed-in view of the search results. This zoomed view shows the same search bar and 'Search results' section, but with 'Items: 1 to 20 of 548'. A 'Last >>' button is visible on the right side of the zoomed view.

**Figura1:** Resultado da busca de polimorfismos no gene *NECTIN1* e seleção dos SNP missenses no NCBI.

No conjunto de ferramentas que avaliam a função da proteína em relação a presença do polimorfismo, a porcentagem variou de 39,3% a 72,2%. Além disso, no SNPs&GO e PMut demonstraram que 20% dos SNPs podem estar associados com suscetibilidade a doenças e, cerca de 85% dos SNPs avaliados apresentam diminuição da estabilidade proteica pelas ferramentas MuPRO e I-MUTANT2.0. Levando tudo isso em consideração, 55% dos polimorfismos analisados apresentaram impactos estruturais, funcionais e de estabilidade proteica em 70% das ferramentas utilizadas.

Os dados sobre os polimorfismos identificados pela análise *in silico* são escassos ou não analisados até o momento, tornando nosso trabalho pioneiro na análise *in silico* dessas variantes na *NECTIN1*.

Após a realização da análise *in silico* utilizando um grande conjunto de ferramentas, as variantes rs7940667, rs141253617 e rs199962982 foram preditas como deletérias na maioria das ferramentas e com potencial de causar efeitos na estrutura, na estabilidade e na função da proteína. Essas três variantes foram ainda analisadas quanto as mudanças nas características estruturais e funcionais da troca de aminoácido utilizando a ferramenta HOPE. Segundo o relatório HOPE, essas variantes levam a mudanças que podem perturbar a rigidez da proteína, alterar a interação com moléculas vizinhas devido a alterações no tamanho do aminoácido em determinada região. Além disso a mudança pode interferir na hidrofobicidade podendo perturbar as interações hidrofóbicas, tanto no núcleo da proteína quanto na superfície.

Os dados sobre os polimorfismos identificados pela análise *in silico* são escassos ou não analisados até o momento, tornando nosso trabalho pioneiro na análise *in silico* dessas variantes na *NECTIN1*. Apesar da indiscutível utilidade da bioinformática na identificação de SNPs, a necessidade de validação experimental dos dados é indispensável para a avaliação do potencial informativo de cada polimorfismo. Para tanto é possível utilizar diversos métodos de identificação e genotipagem de SNPs (VIGNAL et al. 2002).

## **CONCLUSÕES**

Concluimos que as ferramentas de bioinformática são úteis para auxiliar na avaliação e seleção de polimorfismos e assim predizer seu impacto em relação a função, estrutura e a estabilidade da proteína, no entanto, são necessários estudos de validação para confirmar o potencial desses SNPs no câncer, inclusive nas neoplasias tireoidianas.

## BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA JFM, Campos AH, Marcello MA, Bufalo NE, Rossi CL, Amaral LHP, et al. Investigation on the association between thyroid tumorigenesis and herpesviruses. *J Endocrinol Invest*. 2017.

ALMEIDA JFM, Peres KC, Teixeira ES, Teodoro L, Bó IFD, Ward LS. Epstein-Barr Virus and Thyroid Cancer. *Crit Rev Oncog*. 2019.

ALMEIDA JFM, Ward LS. Thyroid autoimmune diseases and thyroid tumors: Would EBV infection be the link? *J Cell Physiol*. 2019

MEDEIROS G, "Tudo o que você gostaria de saber sobre câncer de tireoide". 2003. Instituto da tireoide.

INCA. Incidência de câncer no Brasil. 2020

YUJIAO DENG et al. "Carga Global do Câncer de Tireoide de 1990 a 2017". *rede Jana*. Vol 3,6. 1 de junho de 2020.

FERREIRA, LR et al. Incidência do câncer de tireoide em mulheres brasileiras: uma revisão bibliográfica. 2017

GELLER, M et al. Herpes Simples: Atualização Clínica, Epidemiológica e Terapêutica. 2012.

SANTOS, MPM et al. Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. 2012.

ALMEIDA, NAA Estudo de prevalência do herpes vírus humano 2 (HHV-2) na população carcerária do estado do Mato Grosso do Sul. 2018.

PEREIRA, ABGC et al. Herpes simples resistente ao aciclovir e atividade anti-herpética 2021.

SILVA, DAS et al. Herpesvírus: O ataque e a resposta do hospedeiro. 2011

OMS. Organização Mundial de Saúde. Vírus herpes simples. 2017

OMS. Organização Mundial de Saúde. Vírus Herpes Simples. 2020

MARTINHO, Ana et al. Monografia sobre os Herpesvírus humanos. 2004

CONNOLLY, Sarah A, Theodore S. Jardetzky, Richard Longnecker. A base estrutural da entrada do herpesvírus. Revisões da natureza. *Microbiologia*. 2021

ROBERT JJ et al. Revisão Anual da Biologia do Câncer Imunoterapia do Câncer e Família Nectina. 2021.

PAULO, DG et al. Estrutura da Glicoproteína D do Vírus Herpes Simplex Ligada ao Receptor Humano Nectina-1. 2011.

VIGNAL, A.; Milan, D.; Sancristobal, M.; Eggen, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection. Evolution*, v.34, p.274-305, 2002.