

Pedro A. S. Rodrigues¹, Gustavo J. Lourenço¹, Anderson Zanetti¹, José A. Rinck-Jr.¹, Carlos T. Choné², Carmen S. P. Lima¹
 Departamento de Clínica Médica, Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia; Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.
 E-mail: pedroaugsr@gmail.com

Introdução

Cerca de 9.320 novos casos de câncer de laringe (CL) foram registrados no Brasil em 2009¹, representando 5% de todos os novos casos de câncer² e 3.594 mortes decorrentes dessa doença foram registradas em 2008³.

A incidência do CL no município de São Paulo foi de 14,9 por 100.000 homens/ano e de 1,5 por 100.000 mulheres no ano de 2006. e, assim, constituiu uma das maiores incidências da doença no mundo.³ (Figura 1).

O tabagismo e o etilismo são os principais fatores de risco no desenvolvimento do CL.⁵ O benzopireno, principal produto com potencial mutagênico do tabaco, é metabolizado no fígado a fenol, hidroquinona e catecol, que podem ser transformados em quinonas altamente tóxicas por peroxidases.

O gene *NQO1* é responsável pela produção de enzima, a NAD(P)H: quinona oxidoreductase (*NQO1*) é uma enzima capaz de manter essas quinonas em sua forma reduzida e não tóxicas, prevenindo a formação de adutos de DNA, o que sugere que possa atuar na prevenção da doença.⁶ (Figura 2).

O gene *NQO1* é polimórfico em humanos. O polimorfismo *NQO1* C609T envolve a mudança de uma base nitrogenada citosina por uma timina, na posição 609 da cadeia de DNA.⁸ O genótipo homozigoto variante TT, que apresenta uma atividade enzimática reduzida, foi identificado em 2,0% -25,0% dos indivíduos de diferentes populações étnicas.⁹ Estudos prévios demonstraram uma forte associação entre o polimorfismo C609T do gene *NQO1* e riscos de carcinoma de bexiga, pulmão e de cólon retal,⁷ mas poucos estudos exploraram esse polimorfismo com os riscos de desenvolvimento de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, e em especial o CL.¹⁰ Considerando que não estão esclarecidas as influências do polimorfismo do gene *NQO1* na ocorrência do CL ou em sua associação com aspectos clínicos, estes constituiram os objetivos do presente estudo.



Figura 1. A. Carcinoma laringeo. Observe a lesão fungóide ulcerada e grande envolvendo a corda vocal e o seio piriforme. B. Aparência histopatológica do carcinoma de células escamosas laringeo com inúmeras "póloas císticas". Observe o revestimento epitelial e atípico e as células queratinizadas invasivas da submucosa (Fonte: LINGEN, 2010).

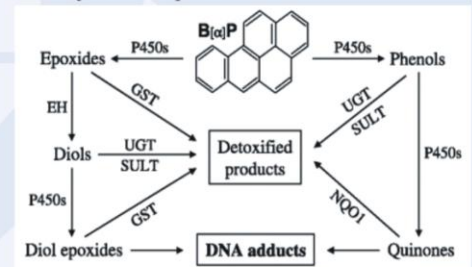


Figura 2. Esquema simplificado sobre interação de enzimas de fase I (P450) e enzimas de fase II (EH, GST, SULT, UGT e *NQO1*) no metabolismo do benzopireno, o protótipo dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Polimorfismos em alguma dessas enzimas podem acarretar danos ao DNA pela formação de adutos, sendo uma etapa à carcinogênese. EH, epóxido hidrolase; SULT, sulfotransferase; *NQO1*, NAD(P)H: quinona oxidoreductase 1; B[a]P, Benzopireno; P450, enzima citocromo P450 (Fonte: AMBROSONE, TANG, 2009).

Materiais e Métodos

O DNA de 120 pacientes (idade média: 59 anos; 15 mulheres, 105 homens; 110 caucasianos, 10 afro-descendentes) e 240 controles (idade média: 52 anos; 30 mulheres, 210 homens; 220 caucasianos, 20 afro-descendentes) foi analisado pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR) e digestão enzimática para identificar os genótipos do gene *NQO1* (Figura 3). A significância estatística das diferenças entre os grupos foi calculada por meio dos testes de Fisher ou qui-quadrado. A análise multivariada foi utilizada para obter razões das chances (ORs) ajustadas por idade, sexo e etnia. Os pacientes foram diagnosticados e estagiados de acordo com os critérios convencionais. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética (CEP) da FCM da UNICAMP (Processo no número 397/2010).

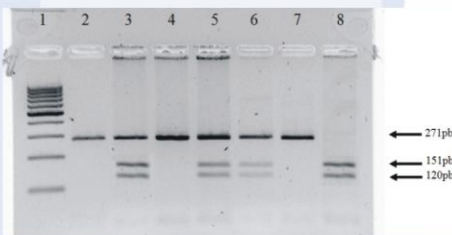


Figura 3. Produtos da digestão enzimática com a enzima HinfI para a detecção do polimorfismo C609T do gene *NQO1* em pacientes com câncer de laringe. Gel de agarose 4% corado com brometo de etídeo com fragmentos de 271 pares de bases (PB) correspondendo ao alelo selvagem do polimorfismo C609T. Os fragmentos de 120pb e 151pb correspondem à presença do alelo variante do polimorfismo C609T. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100pb, está representado na coluna 1. Os resultados de indivíduos com o genótipo homozigoto selvagem (CC) estão representados nas colunas 2, 4 e 7. Estão representados nas colunas 3, 5 e 6 os resultados obtidos em indivíduos com o genótipo heterozigoto (CT). O resultado de indivíduo com genótipo homozigoto variante (TT) está representado na coluna 8.

Conclusão

Nossos resultados sugerem que o polimorfismo C609T do gene *NQO1* não está relacionado ao CL, e nem às manifestações clínicas e biológicas do tumor. Estudos adicionais com maior casuística são necessários para obter conclusões consistentes sobre o assunto.

Referências

1. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativas de câncer 2010. Ministério da Saúde, Brasil, 2010. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso: 13/11/2010.
2. MELO, E. C. M., BRASIL, O. O. C. Câncer de Laringe. In: CAMPOS, C. A. H., COSTA, H. O. O. Tratado de Otorrinolaringologia. São Paulo: Roca, v. 4, p. 133-143, 2002.
3. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional do Câncer, Secretaria de Estado da Saúde, Fundação Coocentro de São Paulo, Secretaria Municipal de Saúde e Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Incidência de Câncer no Município de São Paulo, Brasil. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2006.
4. LINGEN, M. W. - Cabeça e Pescoço. In: ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V., et al. - Patologia - Bases Patológicas das Doenças. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, p. 760-761.
5. DIAS, F. L.; KLIJERMAN, J.; CERVANTES, O.; TAVARES, M. R.; CARVALHO, M. B.; FREITAS, E. Q. Diagnóstico e Tratamento da Câncer da Laringe. Projeto Diretrizes: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Sociedade Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, p. 1-16, 2008.
6. BEGLEITER, A.; NORMAN, A.; LEITAO, D.; CABRAL, T.; HEWITT, D.; PAN, S.; GRANDIS, J. R.; SIEGFRIED, J. M.; EL-SAYED, S.; SUTHERLAND, D.; ROSS, D. A.; KERR, P. A. Role of polymorphisms as risk factors for squamous cell carcinoma of the head and neck. Oral Oncology, 41: 927-933, 2005.
7. AMBROSONE, C. B.; TANG, L. Cruciferous Vegetables Intake and Cancer Prevention: Role of Nutrigenetics. Cancer Prev Res, 2: 298-300, 2009.
8. SMITH, M. T. Benzene, *NQO1* and genetic susceptibility to cancer. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96: 7624-7626, 1999.
9. CHAO, C.; ZHANG, Z.; BERTHILLER, J.; BOFFETTA, P.; HASHIBE, M. NAD(P)H: Quinone Oxidoreductase 1 (*NQO1*) Pro187Ser Polymorphism and the Risk of Lung, Bladder, and Colorectal Cancer: A Meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 14: 979-987, 2006.
10. LI, G.; LIU, Z.; STURGIS, E. M.; CHAMBERLAIN, R. M.; SPITZ, M. R.; WEI, Q. CYP2E1 G1532C, *NQO1* Pro187Ser, and CYP1B1 Val432Leu Polymorphisms Are Not Associated with Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 14: 1034-1036, 2005.

Resultados

As amostras de pacientes e de controles estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg, ($X^2= 0,23$, $P= 0,63$ e $X^2= 5,18$, $P= 0,07$) respectivamente para o locus do gene *NQO1*. Isso demonstra que não houve distribuição preferencial de algum dos genótipos avaliados no grupo de controles e pacientes utilizados no estudo. Frequências similares do genótipo variante TT (9,2% versus 2,5%, $P= 0,17$) e do genótipo combinado CT+TT (48,3% versus 42,5%, $P= 0,36$) foram observadas em pacientes e controles. Indivíduos com os diferentes genótipos do polimorfismo gênico estiveram sob riscos similares de ocorrência da doença. (Tabela 1).

Frequências similares dos genótipos do gene foram observadas em pacientes estratificados por idade, sexo, etnia e estágio do tumor.

Apoio financeiro: SAE/UNICAMP.

Tabela 1. Frequências dos genótipos do polimorfismo C609T do gene *NQO1* em 120 pacientes com CEC de laringe e em 240 controles

Genótipos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%)	Valor de P
CC	62 (51,7)	138 (57,5)	1,00 referência	
CT	47 (39,1)	96 (40,0)	1,16 (0,68-1,98)	0,58
TT	11 (9,2)	06 (2,5)	2,28 (0,69-7,49)	0,17
CC + CT	109 (90,8)	234 (97,5)	1,00 referência	
TT	11 (9,2)	06 (2,5)	2,20 (0,68 - 7,12)	0,18
CC	62 (51,7)	138 (57,5)	1,00 referência	
CT + TT	58 (48,3)	102 (42,5)	1,27 (0,75 - 2,13)	0,36

n: número de casos; OR: razão das chances ajustada por idade, sexo e raça; CC: indivíduos com o genótipo homozigoto selvagem; CT: indivíduos com o genótipo heterozigoto; TT: indivíduos com o genótipo homozigoto variante