

POLIMORFISMOS A2920C DO GENE XPC E T30028C DO GENE XPF, RELACIONADOS COM O REPARO DE LESÕES DE DNA INDUZIDAS POR LUZ SOLAR, NA SUSCEPTIBILIDADE AO MELANOMA MALIGNO



Cristiane de Oliveira, Gustavo Jacob Lourenço, José Augusto Rink-Júnior, Aparecida Machado de Moraes, Carmen Silvia Passos Lima

Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, CP 6111
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

E-mail: crisoliveira85@gmail.com

INTRODUÇÃO

O melanoma maligno (MM) é o tumor de pele mais letal¹. O principal meio de controle da doença é a sua prevenção uma vez que as terapêuticas disponíveis para o tratamento de pacientes são insatisfatórias². O principal fator de risco é a exposição solar aos raios ultravioletas (UV) A e B³. Sete grupos do gene xeroderma pigmentosum (XP) participam do mecanismo de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (REN), que elimina danos causados na estrutura do DNA decorrentes da luz UV^{1,4}. Os polimorfismos A2920C do gene *XPC* e o T30028C do gene *XPF* foram relacionados com o aumento do risco do MM em alguns estudos mas não em outros^{4,5}.

A proteína codificada pelo alelo variante do polimorfismo A2920C do gene *XPC* é menos funcional no reparo do DNA do que a codificada pelo alelo selvagem⁵.

Estudos funcionais das proteínas codificadas pelos alelos distintos do polimorfismo T30028C do gene *XPF* não foram ainda realizados.

OBJETIVOS

Verificar se os polimorfismos A2920C do gene *XPC* e T30028C do gene *XPF* alteram o risco do MM.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes e Controles

Foram avaliados 69 pacientes com MM (idade mediana: 57 anos, variação: 29-86 anos; 29 homens, 40 mulheres; todos caucasianos) e 69 controles saudáveis pareados por idade, sexo e raça aos pacientes.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCM (n°424/2006).

Métodos

O DNA genômico foi obtido das amostras do sangue periférico dos pacientes e dos controles com a utilização da técnica de extração com cloreto de lítio e proteinase K⁶

Parte do éxon 15 do gene *XPC* e parte do éxon 11 do gene *XPF* foram amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) seguido de digestão enzimática, para a identificação dos genótipos do polimorfismo A2920C do gene *XPC*⁷ e T30028C do gene *XPF*¹, respectivamente.

Os produtos da PCR e da digestão enzimática foram analisados em gel de agarose 3% (Figura 2).

O teste de verificação do Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizado com o intuito de verificar se ocorre distribuição preferencial de algum dos genótipos avaliados no grupo de pacientes e controles utilizados no estudo. O significado estatístico das diferenças entre grupos foi calculado por meio do teste do chi-quadrado ou da probabilidade exata de Fisher. As determinações dos riscos de ocorrência de MM foram obtidas por meio das razões das chances (ORs) considerando o intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

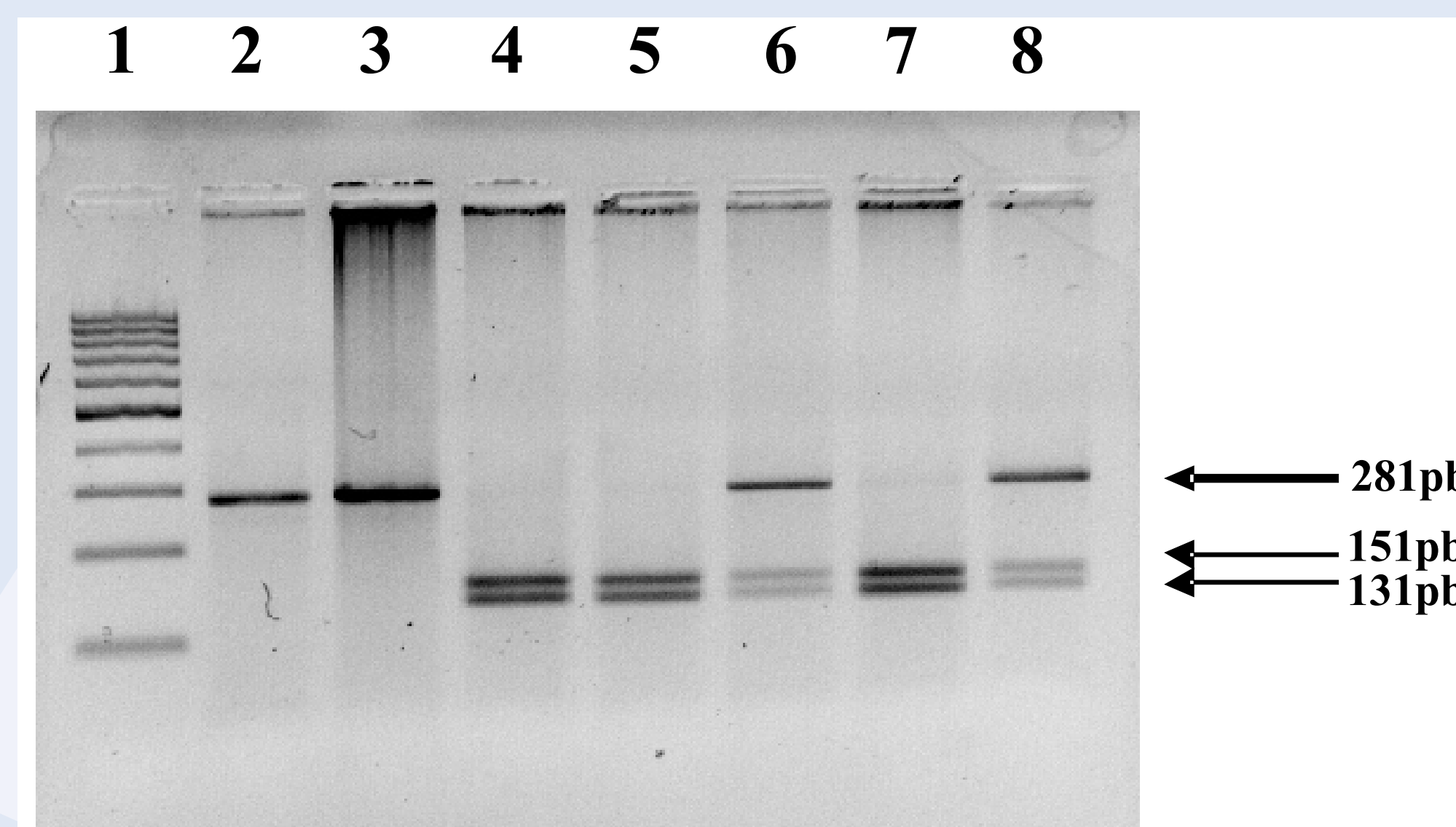


Figura 1. Produtos da digestão enzimática com a enzima *PvuII* para detecção do polimorfismo A2920C do gene *XPC* em pacientes com melanoma maligno e controles. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo com fragmentos de 281pb correspondendo ao alelo selvagem do polimorfismo A2920C. Os fragmentos de 150pb e 131pb correspondem à presença do alelo variante do polimorfismo A2920C. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100pb, está apresentado na coluna 1. Os resultados de indivíduos com o genótipo selvagem (AA) estão apresentados nas colunas 2 e 3. Os resultados de indivíduos com o genótipo homocigoto variante (CC) estão apresentados nas colunas 4, 5 e 7. Estão apresentados nas colunas 6 e 8 os resultados obtidos de indivíduos com o genótipo heterocigoto (AC)

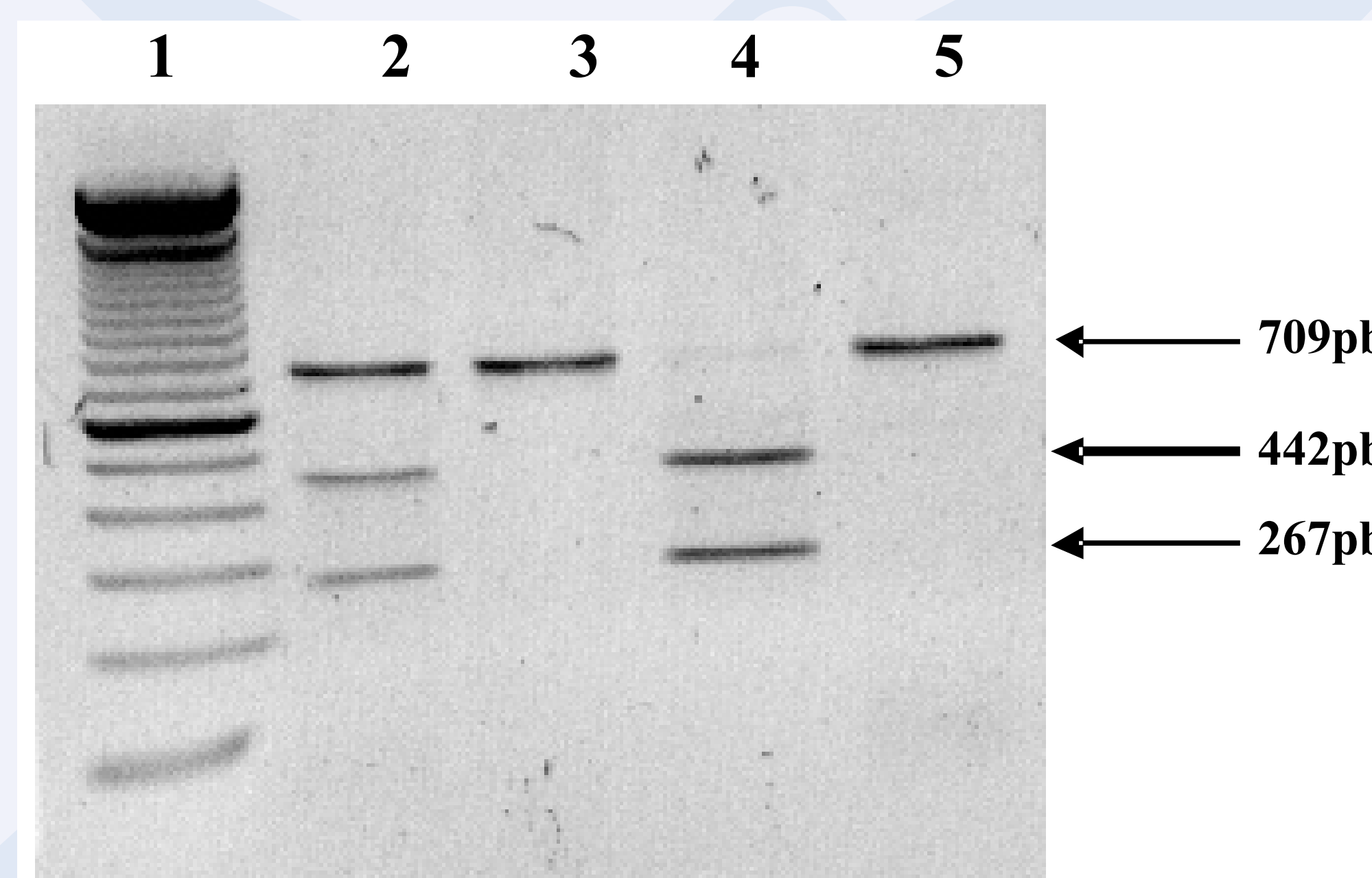


Figura 2. Produtos da digestão enzimática com a enzima *AlwNI* para detecção do polimorfismo T30028C do gene *XPF* em pacientes com melanoma maligno e controles. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo com fragmentos de 709pb correspondendo ao alelo selvagem do polimorfismo T30028C. Os fragmentos de 442pb e 267pb correspondem ao alelo variante do polimorfismo T30028C. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100pb, está apresentado na coluna 1. Na coluna 2 está apresentado o resultado de indivíduos com o genótipo heterocigoto do polimorfismo T30028C (AC). A coluna 3 e 5 correspondem ao resultado de indivíduos com o genótipo homocigoto variante do polimorfismo T30028C (CC). Os resultados de indivíduos com o genótipo selvagem (CC) está apresentado na coluna 4.

RESULTADOS

Os pacientes e os controles do estudo avaliados para os polimorfismos A2920C do gene *XPC* e T30028C do gene *XPF* estiveram no equilíbrio de Hardy-Weinberg ($X^2 = 1,57$, $P = 0,21$ e $X^2 = 0,31$, $P = 0,57$; respectivamente e $X^2 = 0,28$, $P = 0,59$ e $X^2 = 0,78$, $P = 0,37$, respectivamente).

Foram observadas frequências similares dos genótipos dos polimorfismos A2920C do gene *XPC* e T30028C do gene *XPF* em pacientes e controles. Indivíduos com os diferentes genótipos, isolados ou agrupados, estiveram sobre riscos similares de ocorrência da doença (Tabela 1).

Tabela 1: Frequências dos genótipos dos polimorfismos A2920C do gene *XPC* e T30028C do gene *XPF* em pacientes com melanoma maligno e controles

Genótipos	Pacientes n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%)	Valor de P
A2920C XPC				
AA	25 (36,23)	31 (44,92)	1,0 (referência)	
AC	37 (53,62)	32 (46,38)	1,43 (0,70-2,91)	0,37
CC	7 (10,15)	6 (8,70)	1,44 (0,43-4,85)	0,76
AA+AC	62 (89,85)	63 (91,30)	1,0 (referência)	
CC	7 (10,15)	6 (8,70)	1,18 (0,37-3,72)	1,00
T30028C XPF				
TT	31 (45,00)	37 (53,63)	1,0 (referência)	
TC	29 (42,00)	25 (36,23)	1,38 (0,67-2,83)	0,46
CC	9 (13,00)	7 (10,14)	1,53 (0,51-4,59)	0,58
TT+TC	60 (87,00)	62 (89,86)	1,0 (referência)	
CC	9 (13,00)	7 (10,14)	1,32 (0,46-3,79)	0,79
XPC / XPF				
AA + TT	10 (30,30)	17 (48,60)	1,0 (referência)	
AC+CC + TC+CC	23 (69,70)	18 (51,40)	2,17 (0,80-5,87)	0,14
AA + TT	10 (41,66)	17 (58,63)	1,0 (referência)	
AC + TC	14 (58,34)	12 (41,37)	1,98 (0,66-5,94)	0,27

n: número de casos, OR: razão das chances ajustada por idade e sexo, AA e TT: indivíduos com o genótipo selvagem, AC e TC: indivíduos com o genótipo heterocigoto, CC: indivíduos com o genótipo homocigoto variante

CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo sugerem que os polimorfismos A2920C e T30028C dos genes *XPC* e *XPF*, respectivamente, parecem não influenciar o risco de ocorrência do MM. Entretanto, estudos adicionais com maior casuística, bem como estudos dos efeitos dos polimorfismos nas manifestações clínicas da doença, são necessários para obter conclusões consistentes sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

- Povey EJ, Darakhshan F, Robertson K, Bisset Y, Mekky M, Rees J, Doherty V, Kavanagh G, Anderson N, Campbell H, Mackie R, Melton WD. DNA repair gene polymorphisms and genetic predisposition to cutaneous melanoma. *Carcinogenesis* 28(5): 1087-1093, 2007
- Jemal A, Clegg LX, Ward E, Ries LA, Wu X, Jamison PM, Wingo PA, Howe HL, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, with a special feature regarding survival. *Cancer*, 1;101(1):3-27, 2004
- Situm M, Buljan M, Bulic SO. The mechanism of UV in the development of malignant melanoma. *Collegium Antropologicum* 31: 13-16, 2007
- Millikan RC, Hummer A, Begg C, Player J, Cotret AR, Winkel S, Mohrenweiser H, Thomas N, Armstrong B, Krickler A, Marrett LD, Gruber SB, Culver HA, Zanetti R, Gallagher RP, Dwyer T, Rebbeck TR, Busam K, From L, Mujumdar U, Benwick M. Polymorphism in nucleotide excision repair genes and risk of multiple primary melanoma: the genes environment and melanoma study. *Carcinogenesis* 27: 610-618, 2006
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 11(12): 1513-1530, 2002
- Woodhead JL, Fallon R, Figuered H. Alternative methodology of gene diagnosis. In: *Human Genetic Diseases - A practical approach* (K.E. Davies, ed.), pp. 51-64, Oxford: IRL Press, 1986
- Liang J, Gu A, Xia Y, Wu B, Lun, Wang W, Lu C, Zheng Q, Wang S, Wang X. XPC gene polymorphisms and risk of idiopathic azoospermia or oligozoospermia in a Chinese population. *International Journal of Andrology* 30, 1-7, 2007

Suporte Financeiro: CNPq e FAPESP

