



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS
MÉDICAS

YAISA GOMES DE CASTRO

**POLIMORFISMO DO GENE DA INTERLEUCINA *IL-1B*
E SUA ASSOCIAÇÃO COM O RISCO AO
DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO EM UMA
POPULAÇÃO DO NORTE DO BRASIL**

BELÉM-PARÁ

2016

Yaisa Gomes de Castro

**POLIMORFISMO DO GENE DA INTERLEUCINA *IL-1B*
E SUA ASSOCIAÇÃO COM O RISCO AO
DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO EM UMA
POPULAÇÃO DO NORTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, área de concentração: Medicina I, do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ândrea K C Ribeiro dos Santos

BELÉM-PARÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB/UFPA)

Castro, Yaisa Gomes de, 1981-

Polimorfismo do gene da interleucina *Il-1b* e sua associação com o risco ao desenvolvimento do câncer gástrico em uma população do norte do Brasil. / Yaisa Gomes de Castro; Orientador, Prof. Dr^a. Ândrea K C Ribeiro dos Santos. — 2016.

45 f. : il. ; color. ; 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisas em Oncologia, Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2016.

1. Neoplasias gástricas. 2. Polimorfismo genético. 3. Interleucina-1beta. I. Santos, Ândrea K C Ribeiro dos, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.99433098115

Dedico esta dissertação á Maria Luiza Gomes de quem herdei o DNA mitocondrial, deu me a luz, educação e ama me incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

Expresso imensa gratidão à Dra. Ândrea Ribeiro dos Santos pela orientação deste trabalho.

Aos meus colegas de Laboratório do LGHM: Amanda Vidal; Roberta Borges (Robertinha); Mayara; Débora Fernandes; Diego Marques; Leandro Magalhães; Giovanna; Tatá; Gabriela Esteves; Marianne Rodrigues Fernandes; Ana Paula Schaan.

A toda equipe do Núcleo de pesquisas em Oncologia NPO em especial: Diego; Marcos e Renato.

Obrigada Antônio, Pablo Pinto e Milene Raiol pela colaboração na realização da parte prática deste trabalho.

Muitíssimo obrigada Darlen Cardoso de Carvalho, pela parceria nas análises dos dados!!!

A todos os Professores especialmente: Dr. Paulo Assumpção; Dra. Danielle Calcagno; Dr. André Kayhat; Dra. Sâmia Demachki; Dr. Sidney Santos e Ney Santos.

Meus “Scientifics Brothers”: Ricardo Albanus; Jânio Mororo; Carolina Moretto, Osvaldo Neto e Suane Reis.

Aos irmãos e amigos: Pe. Paolo Maria Grossi Catel (*in memoriam*); Pe. Silvio Jaques; Pe. Ezequiel Bridi; Pe. Cláudio Barradas; Frei Alexandre Dowey; Pe. Hélio Fronczak; Pe. Robson de Oliveira; Pe. Alberto Gambarini; Fraternidade “O caminho” Frei Abel; Frei Luiz Maria; Frei Mateus; monjas carmelitas (Carmelo Santa Teresinha do menino Jesus, Benevides-Pará).

As minhas raízes: minha mãe Maria Luiza Gomes; meu irmão Vitor e sua esposa Leide; meus sobrinhos Matheus e Letícia; Minhas tias e mães do coração Beta Rossi e Graça Gomes; Minha prima e irmã do coração Alessandra Rossi; meus primos queridos Aline e Alexandre Rossi.

OBRIGADA A TODOS!!!

“O amor é a rainha das virtudes. Como as pérolas se ligam por um fio, assim as virtudes, pelo amor.”

SÃO PIO DE PIETRELCINA

RESUMO

O câncer é compreendido como um conjunto de doenças com características semelhantes, mas com grande heterogeneidade que ocorre de maneira aleatória e abrange tanto as células tumorais quanto células inflamatórias e imunitárias. Os tumores gástricos, no Brasil e notavelmente no Estado do Pará, apresentam alta incidência. Em geral o câncer gástrico apresenta etiologia multifatorial. A comunicação e sinalização celular que regulam o sistema imunológico são facilitados pelas interleucinas que representam pequenas e específicas proteínas, apresentam funções diversificadas, estas controlam genes, regulam fatores de transcrição, governam a inflamação, diferenciação, proliferação e secreção de anticorpos. Polimorfismo de um único nucleotídeo, em particular a do gene da interleucina pró-inflamatória *IL-1B*, estão associado a resposta imunológica a infecção por *H. pylori*. Com isso, variações dentro dos genes das família da IL-1 foram associados com a suscetibilidade para o desenvolvimento de câncer gástrico. Neste estudo do tipo caso-controle, foram investigados se os polimorfismos *IL-1BF1* (rs16944) e *IL-1BE1* (rs1143627) têm associação com o risco ao desenvolvimento de câncer gástrico em uma população do norte do Brasil; comparados com seus respectivos genótipos, haplótipos, controlados pela ancestralidade genética. Os SNPs foram genotipados, por meio de sondas marcadas com fluoróforo VIC/FAM (Real Time PCR, Life Technologies, CA, USA). As análises bioestatísticas evidenciaram que para as variáveis demográficas, houve diferenças significantes entre os grupos de ancestralidades europeia e africana. Para a distribuição das frequências genotípicas, alélicas e dos haplótipos do gene da *IL-1B* não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Necessita-se de estudos e análises mais abrangentes, para auxiliar o melhor entendimento dos motivos pelos quais nesta população estudada, tais polimorfismos parecem não ter associação com o desenvolvimento da doença em questão.

PALAVRAS CHAVE: Polimorfismo; IL1-B; SNP; oncogenética; imunogenética.

ABSTRACT

Cancer is understood as a set of diseases with similar characteristics, but with great heterogeneity that occurs in a random manner and covers both tumor and inflammatory and immune cells. Gastric tumors, in Brazil and notably in the State of Pará, have a high incidence. In general, gastric cancer has a multifactorial etiology. Communication and cellular signaling that regulate the immune system are facilitated by interleukins that represent small, specific proteins, have diverse functions, they regulate transcription factors, role genes, inflammation, differentiation, proliferation, and secretion of antibodies. Single polymorphism nucleotide, in specific *IL-1B* proinflammatory interleukin gene, is associated with the immune response to *H. pylori* infection. Therefore variations within the *IL-1* family genes were associated with susceptibility to the development of gastric cancer. In this case-control study, we investigated whether the polymorphisms *IL-1BF1* (rs16944) and *IL-1BE1* (rs1143627) are associated with the risk of developing gastric cancer in a population from the north of Brazil; Compared to their respective genotypes, defined haplotypes and these related to ancestry and their rates. SNPs were genotyped by VIC / FAM (Real Time PCR, Fluorescent, Life Technologies, CA, USA) labeled probes. The biostatistical analyzes showed that for the demographic variables, there were significant differences between the groups in European and African ancestry. The distribution of the genotypic, allelic and haplotype frequencies of the *IL-1B* gene was not statistically significant between the groups. More comprehensive studies and analyzes are needed to help understand better why these polymorphisms in this population do not appear to be associated with the development of the disease in question.

KEYWORDS: Polymorphism; IL1-B; SNP; oncogenetic; Immunogenetics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Capacidades ou habilidades adquiridas em múltiplos passos durante a carcinogênese.....	2
FIGURA 2- Desenho esquemático de como as interleucinas (ILs) medeiam o funcionamento celular.....	10
FIGURA 3- Diagrama esquemático mostrando o processamento da IL-1B.....	13
FIGURA 4- Diagrama esquemático mostrando via de secreção de proteínas convencional.....	14

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Revisão de Literatura para o SNP 16944.....	18
TABELA 1 (Continuação)- Revisão de Literatura para o SNP 16944.....	19
TABELA 2- Revisão de Literatura para o SNP 1143627.....	20
TABELA 3- Dados Clínicos dos Pacientes com Câncer Gástrico.....	25
TABELA 4- Variáveis Demográficas dos Grupos Casos e Controle.....	26
TABELA 5- Distribuição Genotípica e Alélica dos Polimorfismos do Gene (IL-1B) entre os Pacientes com Câncer Gástrico e População Controle.....	27
TABELA 6- Haplótipos do Gene IL-1B e sua Associação à susceptibilidade ao Câncer Gástrico.....	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1.1 Características do câncer.....	1
1.2 Câncer gástrico.....	13
1.2.1 <i>H. pylori</i> fator de ao desenvolvimento de câncer gástrico.....	6
1.2.2 A patogênese da <i>H. pylori</i> na carcinogênese gástrica.....	7
1.2.3 Interação da <i>H. pylori</i> na mucosa gástrica.....	8
1.2.4 Interleucinas como reguladores da resposta imune.....	9
1.2.5 A interleucina-1B (IL-1B)	11
1.3 A susceptibilidade genética do indivíduo.....	15
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
3 MATERIAS E MÉTODOS	23
3.1 Casuística.....	23
3.2 Coleta de amostras e extração de DNA.....	23
3.3 Seleção do SNP Genotipagem dos polimorfismos e análise dos dados.....	23
4 RESULTADOS	25
5 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	32
7 REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Características do câncer

O câncer é compreendido como um conjunto de doenças com características semelhantes, mas com grande heterogeneidade. Células *a priori* normais evoluem progressivamente para um estado neoplásico por meio da aquisição de capacidade sucessiva de conduzir à patogenicidade. Este processo, de múltiplas etapas, pode ser sumarizado pela necessidade das células adquirirem características vantajosas que lhes permitam tornarem-se formadoras de tumor e em última análise malignos (DIAZ-CANO, 2012; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Os tumores são mais que massas isoladas de proliferação de células cancerosas, são tecidos complexos compostos por distintos tipos de células que participam de interações heterotípicas e juntamente com células normais, recrutadas do sistema imune, formam o estroma associado ao tumor, as quais participam ativamente da tumorigênese. Desta maneira, contribuem para o desenvolvimento e expressão de certas habilidades do tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2011; QUAIL; JOYCE, 2013). Por consequência, análises histopatológicas evidenciam que alguns tumores são densamente infiltrados tanto por células do sistema imune inato quanto adaptativo, deste modo disseminam condições inflamatórias provenientes de tecidos não neoplásicos (DVORAK, 1986).

Estas habilidades funcionais adquiridas, nomeadas “Hallmarks”, foram definidas no contexto do câncer, como capacidades que permitem as células cancerosas sobreviverem, proliferarem e disseminarem, as quais são adquiridas em múltiplos passos por diversos tipos de tumores, por meio de distintos mecanismos em diferentes períodos durante o curso da formação tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Eles incluem: (1) Manutenção de sinalização proliferativa; (2) Evasão aos supressores de crescimento; (3) Resistência à apoptose que permitem (4) Imortalidade replicativa; (5) Indução à angiogênese; (6) Ativação à invasão e metástase (7) Desregulação do metabolismo energético; (8) Evasão à destruição pelo sistema imune; (9) Mutação e instabilidade genômica; (10) Inflamação induzida pelo tumor. (HANAHAN; WEINBERG, 2011) (Figura 1).



Figura 1- Capacidades ou habilidades adquiridas em múltiplos passos durante a carcinogênese

Fonte: Adaptado HANAHAN and WEINBERG, 2011

A aquisição dos “Hallmarks” é decorrente de duas características principais que os promovem: (i) o desenvolvimento da instabilidade genômica em células neoplásicas, a qual decorre de mutações aleatórias e geram diversidade genética; e a segunda característica (ii) a inflamação de leões pré-malígnas controladas diretamente por células do sistema imune, que não apenas promovem a progressão tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011), mas também ocorre em várias etapas e podem ser relatadas como uma sucessão de expansões clonais desencadeadas pela chance de aquisição de um genótipo mutante. Além disso, fenótipos herdáveis, como a inativação de genes supressores de tumor, também podem ser obtidos pelos mecanismos epigenéticos de metilação do DNA e modificação de histonas (BERDASCO; ESTELLER, 2010; ESTELLER, 2007; JONES; BAYLIN, 2007).

A capacidade de mutar também pode ser adquirida pelo aumento da sensibilidade a agentes mutagênicos que podem desestabilizar vários componentes da maquinária de manutenção genômica. Além disso, o acúmulo de mutações pode ser acelerado pelo sistema de vigilância comprometido que normalmente monitoram a integridade genômica forçando células geneticamente danificadas entrarem em senescência ou apoptose (JACKSON;

BARTEK, 2009; KASTAN, 2008; SIGAL; ROTTER, 2000). O gene *TP53* é primordial para este sistema de vigilância, desta maneira, foi denominado como “guardião do genoma”(LANE, 1992).

O tumor associado a resposta inflamatória tem efeitos imprevisíveis que podem tanto intensificar a tumorigênese e progressão ajudando neoplasias incipientes adquirirem habilidades de “Hallmarks”, como também levar a eliminação pelo sistema imune (COLOTTA *et al.*, 2009; DENARDO; ANDREU; COUSSENS, 2010; GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010; QIAN; POLLARD, 2010). Já a inflamação, pode contribuir aquisição dos “Hallmarks” fornecendo moléculas bioativas para o micorambiente do tumor, incluindo fatores de crescimento que sustentam a sinalização proliferativa, fatores de sobrevivência que limitam a morte celular, fatores pró-angiogênicos, enzimas que modificam a matriz-extracelular e facilitam a angiogênese, invasão e metástases, sinais indutivos que levam a transição epitelial mesenquimal (EMT) (DENARDO; ANDREU; COUSSENS, 2010; GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010; KARNOUB; WEINBERG, [s.d.]; QIAN; POLLARD, 2010). Adicionalmente, células inflamatórias podem liberar espécies reativas de oxigênio que são ativamente mutagênicas para células próximas, acelerando sua progressão genética para estados de malignidade intensificado (GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010).

A proliferação celular crônica representa a essência da doença neoplásica, envolve não só o controle desregulado da proliferação celular, mas também corresponde ao ajustamento do metabolismo energético com a finalidade de fornecer energia à divisão e o crescimento celular. As células cancerosas podem reprogramar o seu metabolismo de glicose. Por limitar seu metabolismo energético em grande parte para glicose. Desta forma, sua produção de energia leva a um estado denominado “glicólise aeróbica” (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Por isso, o metabolismo energético alterado propagado em células cancerosas, como muitos outros traços do câncer, também foram caracterizados como “Hallmarks” do câncer. Portanto, a designação do metabolismo energético reprogramado como uma característica emergente parece mais adequado para destacar tanto a sua evidente importância como também as questões envolvidas em torno de sua independência funcional a partir das características fundamentais (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

A teoria da vigilância imunológica propõe que as células e tecidos são constantemente monitorados por um sistema imunológico sempre alerta e que tal vigilância é responsável por reconhecer e eliminar a grande maioria das células cancerosas incipientes e os tumores

nascentes. De acordo com esta lógica, os tumores sólidos conseguem evitar a detecção pelos vários ramos do sistema imune ou tem a capacidade de limitar a extensão do sistema imunológico, evitando assim sua eliminação. O papel do monitoramento defeituoso de tumores parece ser validado pelo aumento do número de certos tipos de câncer por indivíduos imunocomprometidos (VAJDIC; VAN LEEUWEN, 2009).

Com a evasão ativa por células cancerosas ao ataque e eliminação por células do sistema imunológico, destacam-se a função dicotômica do sistema imunológico que podem tanto antagonizar, quanto impulsionar o desenvolvimento e progressão tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Biologicamente, as neoplasias desenvolvem-se pela aquisição de capacidades que envolvem aspectos das células de tumoral e suas interações com o microambiente modificado o que resulta em crescimento ilimitado devido ao acúmulo progressivo de mutações que afetam importantes vias metabólicas. Portanto a correlação destes aspectos moleculares com alterações morfológicas são fundamentais para a compreensão de conceitos da biologia do câncer além da heterogeneidade tumoral (DIAZ-CANO, 2012). Esta heterogeneidade, ocorre de maneira aleatória e abrange tanto as células tumorais quanto células heterotípicas (células inflamatórias e imunitárias; mesenquimais; estruturas vasculares e da matriz extracelular (MEC). (BLANES; DIAZ-CANO, 2006). Para isso, o aumento da instabilidade genética e um grande número de divisões celulares são necessários para o desenvolvimento de doenças malignas. Considerando-se desta maneira a tumorigênese um processo de seleção de células que proporcionam o surgimento de clones mutantes (DIAZ-CANO, 2012).

A heterogeneidade intratumoral se manifesta em fenótipos hereditários, que por sua vez fornecem recursos para a “força” de seleção atuar. Entretanto, é possível que grande parte de tumores heterogêneos observados podem ter sua origem por meio da plasticidade fenotípica e diferenciação em célula tronco tumoral não hereditárias (DIAZ-CANO, 2012).

1.2 Câncer Gástrico

A estimativa mundial apontou a ocorrência de cerca de 1 milhão de novos casos de câncer de estômago (6,8% do total) no ano de 2012, configurando-se como a quinta causa mais comum de câncer. A maioria dos casos ocorrem em países em desenvolvimento, com médio ou baixo IDH, e alta prevalência de infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Nas Regiões Norte (11,62/100 mil) e Nordeste (10,67/100 mil) o câncer de estômago

em homens é o segundo mais frequente. Esperam-se 12.920 novos casos de câncer de estômago em homens e 7.600 em mulheres para o Brasil no ano de 2016 (INCA, 2016). A alta incidência de tumores gástricos no Brasil, notavelmente no Estado do Pará, e fatores genéticos parecem potencialmente associados nesta população e são focos de atenção tanto de oncologistas clínicos, quanto de pesquisadores (EL-HUSNY *et al.*, 2016).

A pesar de ter sido a segunda causa de morte por câncer no mundo em ambos os gêneros em 2012, a taxa de mortalidade apresentou um declínio ao longo do tempo em vários países (INCA, 2016). Com isso, destacamos três principais fatores que podem ter contribuído para este declínio: (i) melhor conservação dos alimentos; (ii) o consumo de alimentos frescos; e (iii) a redução de alimentos conservados no sal. Em geral o câncer gástrico apresenta o fator ambiental/comportamental como a principal causa para o seu desenvolvimento. Entretanto, estudos apontam que fatores genéticos poderiam influenciar no desenvolvimento desta neoplasia (INCA, 2016).

Assim a progressão para o câncer gástrico é provavelmente dependente de etiologia multifatorial, combinado à ação da patogenicidade bacteriana, à suscetibilidade do hospedeiro, e fatores ambientais (ESSADIK *et al.*, 2015; ROKKAS *et al.*, 2014).

Dentre estes fatores, o sal é um componente dietético bem conhecido, onde foi observada uma correlação significativa entre seu consumo e o adenocarcinoma gástrico (AHN; LEE, 2015). Seja por hábito cultural, falta de informações ou acesso a refrigeradores e energia elétrica, em muitas populações sobretudo no norte do Brasil é bastante comum pessoas consumirem alimentos salgados (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2016).

Em um estudo realizado com amostras de peixe pirarucu, do mercado ver-o-peso na capital do Estado do Pará região norte do Brasil, evidenciou-se a existência de maior concentração de nitritos em peixes salgados quando comparados com peixe fresco. Entretanto, mesmo após a submersão de amostras de peixe em água, o estudo concluiu não ser efetivo para a redução do risco ao desenvolvimento de câncer gástrico (ASSUMPÇÃO *et al.*, 2016).

Além do que, o sal pode destruir a mucosa gástrica, induzindo à inflamação e danos que permitem a entrada de carcinógenos no estômago (AHN; LEE, 2015) e o consumo elevado de sal também desregula a produção de enzimas e citocinas pró-inflamatórias (AHN; LEE, 2015; TOYODA *et al.*, 2008).

A maioria dos casos de pacientes com câncer gástrico são adenocarcinoma que segundo o sistema de classificação proposto Lauren, existem dois tipos gerais de adenocarcinoma gástrico: o tipo intestinal (50%) e o tipo difuso (33%) e os 17% restantes corresponde a outros tipos (GOMCELI; DEMIRIZ; TEZ, 2012).

O adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal está mais associado à inflamação crônica relacionada à fatores ambientais como infecção por *H. pylori* (PEEK; CRABTREE, 2006b; UEMURA *et al.*, 2001), que induz a secreção crônica de ácido gástrico e pode levar à carcinogênese (BLOT WJ. *et al* 2006, BLOT WJ 2006).

O adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal é resultante de uma sequência de lesões no tecido gástrico (cascata de Correa) com características bem definidas: gastrite não atrófica; gastrite atrófica multifocal sem metaplasia; metaplasia intestinal do tipo completo; displasia; câncer (PARK; KIM, 2015).

O adenocarcinoma gástrico do tipo difuso, ocorre em pacientes mais jovens, apresenta pior prognóstico que o tipo intestinal. Não apresenta lesões pré-malignas identificáveis, sendo mais associado às alterações genéticas em células-tronco do câncer gástrico ou em células epiteliais precursoras, além de ter ser relacionado á origem familiar (HAMILTON; MELTZER, 2006).

1.2.1 *H. pylori* um fator de risco ao desenvolvimento de câncer gástrico

H. pylori é uma bactéria gram-negativa microaerofílica que infecta cerca de 50% da população mundial. Esta bactéria é encontrada em diversas populações, embora sua incidência varie com a idade, status sócio-econômico, fatores ambientais, profissão e região geográfica. A incidência é mais elevada em países em desenvolvimento e em grande parte da Ásia oriental (AHN; LEE, 2015; WROBLEWSKI; PEEK; WILSON, 2010).

As principais manifestações clínicas da infecção por *H. pylori* são as seguintes: (1) gastrite crônica, na qual grande parte dos pacientes desenvolvem, mas permanecem assintomáticos; (2) úlcera duodenal (UD), que ocorre em cerca de 10% a 15% dos indivíduos infectados; (3) úlcera gástrica, cujo adenocarcinoma se desenvolve em câncer gástrico em 1% a 3% dos indivíduos infectados; e (4) mucosa gástrica, linfoma associado a tecido linfoide (MALToma) que se desenvolve em 1% dos indivíduos infectados (AHN; LEE, 2015; PEEK; CRABTREE, 2006a).

O adenocarcinoma gástrico, ocorre mais frequentemente quando há colonização de *H. pylori* proximal do estômago, provoca danos às glândulas gástricas, causando gastrite atrófica e hipocloridria associada a acloridria. Caracteriza-se por baixos níveis de pepsinogênio I, elevados níveis de gastrina e baixa proporção de pepsinogênio I/II. O adenocarcinoma gástrico, progride para um processo de múltiplos passos, incluindo metaplasia intestinal, displasia e adenocarcinoma (AHN; LEE, 2015; AMIEVA; EL-OMAR, 2008; EXAMINATION, 2005).

Esta série de alterações histológicas podem levar até sete ou oito décadas (AHN; LEE, 2015; AMIEVA; EL-OMAR, 2008), sendo estas alterações características marcantes do adenocarcinoma do tipo intestinal. Além disso, acredita-se que *H. pylori* também está associada com adenocarcinoma do tipo difuso (AHN; LEE, 2015; POLK D BRENT, 2010).

1.2.2 A patogênese da *H. pylori* na carcinogênese gástrica

A carcinogênese gástrica, entre indivíduos infectados por *H. pylori*, necessita de uma combinação de fatores como: virulência da cepa bacteriana; suscetibilidade genética do hospedeiro e ambiente gástrico pré-disposto para o desenvolvimento do câncer gástrico (AHN; LEE, 2015).

H. pylori produz vários fatores de virulência que podem desregular as vias de sinalização intracelular do hospedeiro e assim iniciar a transformação neoplásica. Dentre vários fatores de patogenicidade bacteriana os principais são: *cagA* (citocina associada ao gene A) e sua ilha de patogenicidade (*cag PAI*), *vacA* (citotoxina vacuolar A) (AHN; LEE, 2015).

Cag PAI e *cagA*: O mais bem caracterizado fator de virulência da *H. pylori* é o *cag PAI* o qual tem aproximadamente 40 kb e contém 27-31 genes. O gene terminal desta ilha, *cagA* é uma proteína altamente imunogênica (AHN; LEE, 2015). Acredita-se cepas *cagA*-positivo (*cagA-PAI*) estejam ligadas a inflamação mais severa, atrofia gástrica e uma maior possibilidade de avanço para adenocarcinoma gástrico em relação às cepas *cagA*-negativo (AHN; LEE, 2015; PARSONNET *et al.*, 1997).

A proteína *vacA* é um potente inibidor de células T *in vitro* (AHN; LEE, 2015), além disso, esta proteína tem várias atividades tais como: formação de poros em membranas; liberação do citocromo C das mitocôndrias, progredindo para apoptose, unindo membranas celulares à receptores resultando em uma resposta pró-inflamatória (AHN; LEE, 2015;

YAMAOKA; GRAHAM, 2014). Todas as cepas de *H. pylori* possuem mais da metade dos genes *vacA* expressos, os quais codificam uma porina que se liga ao epitélio por meio de uma interação com a proteína tirosina fosfatase (AHN; LEE, 2015; YAHIRO *et al.*, 2003).

1.2.3 Interação da *H. pylori* na mucosa gástrica

As células epiteliais formam uma barreira entre o lúmen e o espaço intersticial. Junções apical são fundamentais na manutenção de funções essenciais de células epiteliais, tais como manutenção da polaridade celular apical-baso-lateral, adesão célula-célula, proliferação celular e movimentação das células (ALZAHRANI, 2014; AMIEVA; EL-OMAR, 2008).

A integridade geral da barreira epitelial depende da impermeabilidade célula-célula que é mantida por quatro tipos de junção incluindo junções firme, desmossomo, junções de gap e junções aderentes. Junções firmes são complexos multiproteicos e representam o tipo mais comum de junção no lúmen, são importantes na regulação da difusão pelo epitélio. Junções firme consistem de diferentes proteínas do suporte, tais como zônula de oclusão (ZO)-1, moléculas de adesão juncional (JAM)-1, claudina e ocludina (ALZAHRANI, 2014).

A indução das vias de sinalização epitelial do hospedeiro pela ligação da *H. pylori* ou através de mediadores solúveis tem muitas consequências no epitélio gástrico que variam a partir da função da barreira epitelial para processos pró-inflamatórios e carcinogênicos. Outra importante consequência da desregulação/ativação de vias de sinalização epitelial a oposição de mecanismos importantes na resposta imune do hospedeiro e a imunidade debilitada contribui para a cronicidade que é uma característica “Hallmark” da infecção (ALZAHRANI, 2014).

A proteína E-caderina, responsável pela adesão de células epiteliais não neurais entre outras funções, é codificada pelo gene *CDH1* e mutações germinativas neste gene tem sido descritas na carcinogênese de diversos tipos de tumores entre estes o gástrico (EL-HUSNY *et al.*, 2016).

1.2.4 Interleucinas como reguladores da resposta imune

A imunidade inata é composta de diversos componentes e variáveis. A pele, secreções mucosas e PH intestinal são barreiras físicas/químicas e representam a primeira linha de defesa (WICKHAM, 2013) para a resposta aos agentes patogênicos. Esta refere-se a respostas que não requerem exposição prévia ao estímulo imune (WROBLEWSKI; PEEK; WILSON, 2010).

Quando um agente infeccioso evade estas barreiras e invade o hospedeiro, a defesa imune inata entra em ação, então o agente faz o primeiro contato com os macrófagos e monócitos. Embora este tipo de resposta ou defesa não seja específico, elas fazem e dependem fortemente de interações com receptores específicos de superfície celular (WICKHAM, 2013).

Estes receptores são os domínios TLRs, os quais são ativados pelo reconhecimento do agente patogênico padrões moleculares associados a patógenos PAMPs (6). A ativação não específica estimulada por micro-organismos pode levar a importantes efeitos antimicrobianos, mas também pode resultar em inflamação e lesões devido a liberação de mediadores inflamatórios como citocinas ou interleucinas (WROBLEWSKI; PEEK; WILSON, 2010).

A resposta imune adaptativa é considerada uma resposta pré-determinada a um estímulo imunológico previamente identificado. Assim, a resposta é específica a um patógeno particular e envolve a memória imunológica. No entanto, o limite entre a imunidade inata e adaptativa não são claramente distinguíveis e são marcadas por estreitas interações entre as vias, de tal modo que a estimulação de apresentadores de antígenos de macrófagos e células dendríticas (CDs), levam a ativação e recrutamento de linfócitos e o desenvolvimento de células T-helper células de resposta específica (Th) (WROBLEWSKI; PEEK; WILSON, 2010).

As interleucinas pertencem a uma diversa família de citocinas, e representam pequenas e específicas proteínas de sinalização celular que regulam o sistema imunológico de um organismo. Estas são sintetizadas predominantemente pelas células T, monócitos, macrófagos e células endoteliais e apresentam funções diversificadas, facilitando a comunicação entre células do sistema imune, controlando genes, regulando fatores de transcrição, governando a inflamação, diferenciação, proliferação e secreção de anticorpos (YUZHALLIN, 2011).

As citocinas podem atuar de forma autócrina afetando o comportamento de células que liberam as citocinas, ou de forma parácrina afetando o comportamento de células adjacentes e

algumas podem atuar de forma endócrina afetando o comportamento de células distantes. Cada IL tem um receptor dependente de ligante (IL-R) os quais são expressos nas superfícies das células alvo e participam diretamente na sinalização. Esses receptores são glicoproteínas de membrana, os quais consistem em um domínio externo semelhante a imunoglobulina (immunoglobulin-like), região transmembrana e domínio citoplasmático (MCMAHAN *et al.*, 1991; YUZHALLIN, 2011).

A ação das ILs nas células ocorre por várias vias. Primeiro, a IL liga-se ao receptor de superfície na célula formando um complexo único que leva a alterações conformacionais na IL-R, trazendo os JAKs (tirosina quinases específicas), suficientemente próximas para ocorrer a autofosforilação (MCMAHAN *et al.*, 1991; YUZHALLIN, 2011).

A autofosforilação de JAKs induz a uma alteração conformacional na sua própria estrutura, permitindo-lhe ainda, aumentar a autofosforilação ativando os fatores de transcrição chamados transdutores e ativadores de transcrição (STATs). Ativados os STATs, dissociam-se para os receptores e formam dímeros antes da translocação para o núcleo celular, onde eles regulam a transcrição de genes selecionados (YUZHALLIN, 2011) (Figura 2).

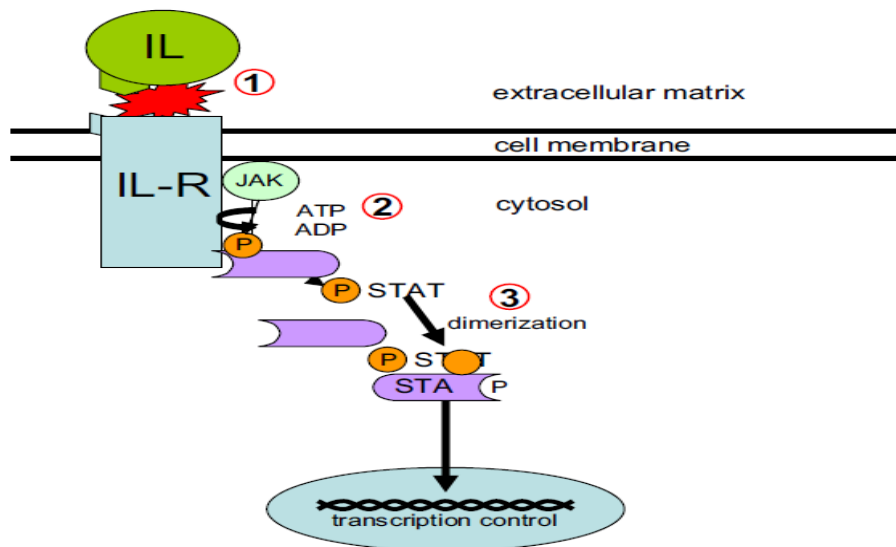


Figura 2- Desenho esquemático de como as interleucinas (ILs) medeiam o funcionamento celular

Fonte: YUZHALLIN, 2011

1.2.5 A interleucina-1B (IL-1B)

A interleucina-1B (IL-1B) é uma potente citocina pró-inflamatória que é crucial para a resposta de defesa do hospedeiro à infecção e lesões (WICKHAM, 2013). Além disso, entre os membros da família IL-1 a IL-1B é a mais bem estudada e melhor caracterizada. Embora a maioria dos estudos tenham sido centrados na sua produção por monócitos e macrófagos, esta citocina também é produzida e secretada por diversas células do sistema imune inato tais como células T, células endoteliais e fibroblastos (YUZHALLIN, 2011).

Ressalta-se que, a maioria dos macrófagos, células fagocíticas presentes em diversos tecidos, são derivados de células tronco da linhagem granulócitos-monocíticas, na medula hemotopoiética, local onde desenvolvem-se à proporção que são expostos à citocinas. Desta maneira, a diferenciação das células tronco em macrófagos está associada à expressão de receptores de membrana específicos para citocinas (DUQUE; DESCOTEAUX, 2014).

Por mais que a principal função dos macrófagos seja fagocitar agentes estranhos que invadem o organismo, eles também eliminam células apoptóticas e reciclam nutrientes mediante a digestão de resíduos de produtos a partir de tecidos. Sendo portanto essencial não só para a imunidade, mas também para o desenvolvimento e homeostase dos tecidos (DUQUE; DESCOTEAUX, 2014).

Em vista de que os macrófagos sejam a fonte principal de citocinas, são expostos a estímulos inflamatórios eles também secretam citocinas. Embora, elas também sejam produzidas por outras células do sistema imune inato. Adicionalmente, os macrófagos também liberam quimiocinas, leucotrienos, prostaglandinas e complemento. Todas essas moléculas, em conjunto, podem induzir a permeabilidade vascular e recrutamento de células inflamatórias (DUQUE; DESCOTEAUX, 2014).

Por consequência, a produção e o lançamento da IL-1B são induzidos por uma ampla variedade de estímulos, os quais são podem ser divididos em moléculas padrão molecular associados ao patógeno (PAMPs) e moléculas Padrão molecular associado à dano (DAMPs). Assim, microorganismos patogênicos são reconhecidos por meio de PAMPs tais como lipopolissacarídeos (LPS), ácido lipoteicóico ou flagelina e DAMPs tais como ATP, cristais de ácido úrico ou proteínas S100 que são ligantes endógenos lançados por células danificadas (EDER, 2009; LOTZE *et al.*, 2007). Desse modo, infecções bacterianas são relacionadas com danos a tecidos e levam a liberação de componentes intracelulares, em razão disso moléculas

PAMP e DAMP podem contribuir simultaneamente para a indução do lançamento da IL-1B (Di Virgilio *et al.* 2007).

De fato, evidências experimentais demonstram que cultura de células tratadas com LPS e ATP fornecem uma diversidade de estímulos que induzem o rápido e eficiente lançamento de IL-1B para macrófagos, monócitos e células dendríticas (Di Virgilio *et al.* 2007). Em vista disso, o mRNA e a proteína da IL-1B não são constitutivamente expressos por monócitos, mastócitos ou células dendríticas. Desta forma, o estímulo é necessário para a transcrição do gene *IL-1B* e a tradução da proteína que são fortemente controlados por uma variedade de fatores de transcrição e sinais citoplasmáticos (EDER, 2009). Com isso, destacam-se três principais etapas envolvidas na produção e secreção de IL-1B, são elas: (I) produção de pró-IL-1B biologicamente inativa. (II) clivagem da pró-IL-1B pela caspase-1 resultando na geração da forma madura e biologicamente ativa da IL-1B. (III) secreção da IL-1B madura (EDER, 2009).

Para tanto, a sequência de processamento da pró-IL-1B e a secreção rápida da IL-1B madura pela célula dependem da caspase-1. Entretanto, este mecanismo de secreção ainda não está muito claro. Sendo assim, observações sugerem que existem múltiplos mecanismos de secreção e que estes não podem ser mutuamente exclusivos, mas cada um deles pode dar sua contribuição específica para a inflamação dependente de IL-1B (LOPEZ-CASTEJON; BROUGH, 2011).

Após a produção da pró-IL-1B um segundo sinal, decorrente PAMPs ou DAMPs, é necessário para o processamento e liberação rápida da IL-1B que é regulado pela caspase-1 ativa também conhecida como enzima de conversão de interleucina-1 (ECI) caspase-1. Esta enzima, é uma protease cisteína composta por duas subunidade de 10 KDa e duas 20 KDa e sua ativação requer a montagem e ativação de inflamossomos, complexos multiprotéicos que compreendem uma proteína intracelular adaptadora associada á apoptose ASC e NLR cujo estímulo induz a rápida e eficiente transformação da IL-1B e seu subsequente lançamento. Na ausência desse segundo estímulo, as células lançam muito lentamente pequenas quantidades de IL-1B madura para processamento no meio extracelular (Figura 3). (LOPEZ-CASTEJON; BROUGH, 2011).

Desse modo, a sequência de processamento da IL-1B que ocorre no retículo endoplasmático e juntamente com o complexo de Golgi formam um complexo de endomembranas responsáveis pelo direcionamento da grande maioria de proteínas para o espaço extra-celular e compartimentos especializados sub-celular (D. 190 BROUGH 1994).

(EDER, 2009). Assim, este mecanismo é típico de proteínas de exportação que atingiu a categoria de ser a via “convencional” quando comparado com a secreção de proteínas que utilizam a rota de saída alternativa “não-convencional” (NICKEL W; RABOUILLE). Portanto, os mecanismos, dependem da concentração de PAMPs e DAMPs, fatores como tipo de células, microambiente onde destacam-se a temperatura e PH (LOPEZ-CASTEJON; BROUGH, 2011).

Em decorrência deste fatores, uma célula pode ser induzida a liberar um baixo nível de IL-1B sem conduzi-la a apoptose, com isso a medida que o efeito inflamatório aumenta, outros mecanismos são induzidos em razão disto, a célula não mantém a latência de sua membrana plasmática levando-a apoptose (LOPEZ-CASTEJON; BROUGH, 2011; MACKENZIE *et al.*, 2001). Assim, se a interleucina IL-1B é produzida na ausência direcionada de estímulos, esta não segue a via de secreção convencional de proteínas, mas sim por vias não convencionais. Com isso, todos os mecanismos fazem parte de um espectro contínuo de secreção, onde as vias utilizadas são coordenadas pela força do estímulo inflamatório, desta maneira os níveis de IL-1B requerem uma composição de efetivas respostas inflamatórias extracelular (LOPEZ-CASTEJON; BROUGH, 2011) (Figuras 3 - 4).

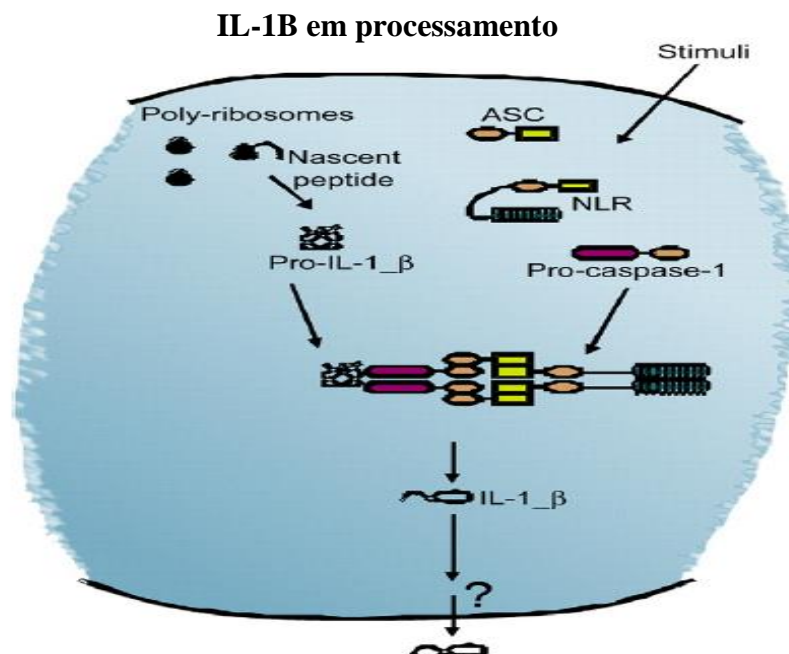


Figura 4- Diagrama esquemático mostrando o processamento da IL-1B
Fonte: LOPEZ-CASTRJON; BROUGH, 2011.

Mecanismo convencional de secreção

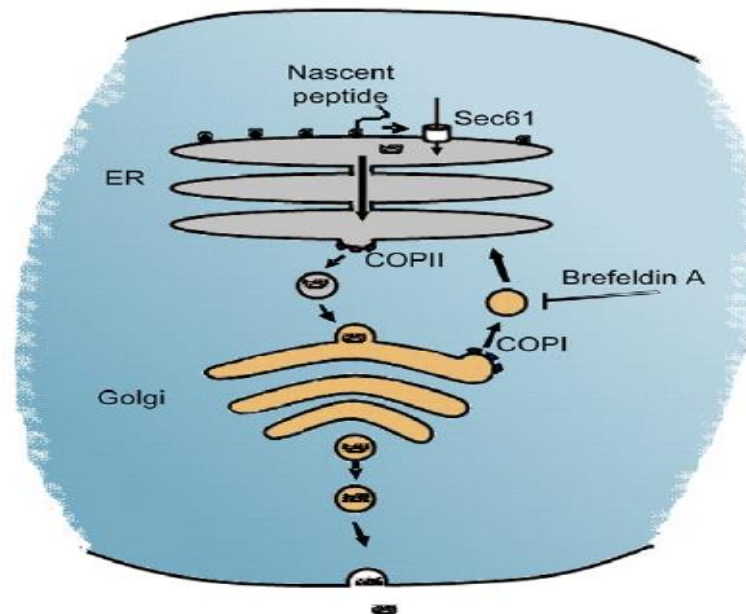


Figura 4- Diagrama esquemático mostrando o mecanismo convencional de secreção da IL-1B
Fonte: Adaptado de LOPEZ-CASTRJON; BROUGH, 2011.

A capacidade de produzir diferentes interleucinas varia entre diferentes indivíduos e pode ser determinado geneticamente. Tais diferenças interindividuais podem ser atribuídas a diversos mecanismos moleculares incluindo polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) em regiões funcionais do gene de interleucinas e seus receptores. Em geral, estes SNPs podem afetar a expressão e secreção de citocinas, além do que podem demonstrar a heterogeneidade no desenvolvimento de doenças (AP *et al.*, 2000; IRTIZA *et al.*, 2015).

A interleucina IL-1B, mapeamento cromossômico 2q14.1, tem um papel relevante na sinalização das vias de resposta imune (Dinarello CA, 1994, *apud* YUZHALLIN, 2011) o *cluster* do gene da IL-1B consiste de três genes ligados *IL-1A*, *IL-1B* e *IL-1RA*, os quais codificam as proteínas de sinalização IL-1A, IL-1B e seu receptor IL-1RA respectivamente. A relação do polimorfismo do gene *IL-1B* e *IL-1RA*, com o desenvolvimento do câncer gástrico foi evidenciada em diversos estudo (AP *et al.*, 2000; YUZHALLIN, 2011).

Desta forma, o aumento da expressão do gene *IL-1B*, promovida pela infecção por *H. pylori*, pode inibir a produção de ácido gástrico promover gastrite atrófica crônica ou ulcera duodenal (Blanchard TG and Czinn SJ, 1998, *apud* YUZHALLIN, 2011)(KIM; LEE, 2014). Por esta razão, a hiperexpressão do gene *IL-1B* representa fisiologicamente a inibição da

secreção do ácido gástrico que aumenta a expressão da gastrina e estimula o crescimento neoplásico (Rozenfurt E. and Walsh JH., 2001, *apud* YUZHALLIN, 2011). Embora o aumento da expressão gênica de *IL-1B* também possa ocorrer na ausência da infecção por *H. pylori* em decorrência da presença de SNPs (Kuipers EJ, *et al.* 1995, *apud* YUZHALLIN, 2011)

1.3 A susceptibilidade genética do indivíduo

O tipo mais comum de polimorfismo, é de único nucleotídeo (SNP), é a alteração de um nucleotídeo em um único par de bases a qual pode conter informações diferentes em um locus específico dentro de um gene. O alelo menos frequente do SNP em uma população é denominado menor frequência do alelo (MAF) e pode variar entre as populações. O alelo tipo selvagem, considerado o alelo normal, é o mais frequente em uma determinada população (MANUSCRIPT, 2011).

Os SNPs ocorrem ao longo do genoma nas porções codificantes e não codificante da molécula de DNA. Com isso, se o SNP não leva a uma modificação em uma sequência polipeptídica, o SNP sinônimo (SSNP). Contudo, se o SNP levar à mudanças na estrutura da proteína e conseqüentemente alterar sua função biológica, este representa um potencial mecanismo para o desenvolvimento de doenças, desta maneira é denominado SNP não sinônimo (nsSNPs) (MANUSCRIPT, 2011).

Conforme evidenciam-se em estudos de genomas em larga escala, como HapMap e 1.000 genomas, há um ampla gama de variações genéticas, dentre estas os polimorfismos de um único nucleotídeo, em populações de diferentes continentes (RIBEIRO *et al.*, 2016) .

Os SNPs podem levar a mudanças em fatores de transcrição e variar a eficiência da transcrição gênica, assim como introduzir o códon de iniciação de transcrição alternativa que pode levar à regulação negativa do transcrito do tipo selvagem (DUAN J, *et al.* 2003). Este polimorfismo é bastante informativo e extensivamente usado em estudos que investigam sua associação com muitas doenças, incluindo câncer. Aqueles que codificam interleucinas e seus receptores podem alterar a função de citocinas e desregular a sua expressão, assim como causar defeitos na cascata de citocinas (YUZHALLIN, 2011).

Atualmente, têm se investigado a suscetibilidade individual no genoma humano a vários fatores de risco. Com isso, diversos estudos sobre a correlação entre polimorfismo de um único nucleotídeo SNPs e o risco ao desenvolvimento de várias doenças dentre as quais destacam-se o câncer têm sido documentados (TSIGRIS C. *et al.* 2007). Portanto, estes

polimorfismo podem ser aplicados como possíveis marcadores específicos para a predisposição e prevenção de tumores (YUZHALLIN, 2011).

Alguns SNPs específicos, em genes de citocinas, estão relacionados por influenciar a expressão e ou atividade da proteína que codificam, deste modo tornam o indivíduo pré-disposto ao desenvolvimento de certos tipos de câncer (MOSSER DM; ZHANG X. 2008-ZHANG H *et al.* 2012,2013,2014).

Destaca-se que a resposta imunológica à infecção por *H. pylori* envolve a resposta intensa de citocinas do sistema imune inato, em particular a interleucina-1 (IL-1B) (HITZLER I, *et al.* 2012; A. H. VAN DER PLOEG *et al.* 2013), a qual é essencial para o início e aumento da resposta à *H. pylori*. Esta citocina é um importante inibidor da secreção do ácido gástrico que a longo prazo pode levar a atrofia da mucosa gástrica que é considerada uma lesão pré-cancerosa (BROCKER *et al.*, 2010).

As variações dentro dos genes da família da IL-1 foram associados com a suscetibilidade para o desenvolvimento de câncer gástrico (EL-OMAR EM, *et al.* 2000; EL-OMAR EM, *et al.* 2003; A. H. VAN DER PLOEG *et al.* 2013). Particularmente, dois polimorfismos na região promotora do gene *IL-1B*, o *IL-1B511*(C/T; rs 16944) e o *IL-1B31* (T/C; rs 1143627), os quais representam transições C>T e T>C respectivamente, em desequilíbrio quase total de ligação (HAMAJIMA *et al.*, 2002; IRTIZA *et al.*, 2015). Os alelos menos comuns deste *loci* (*IL-1B^{511T}* e *IL-1B^{31C}*) foram relacionados ao risco de desenvolvimento de câncer gástrico. (BIDWELL *et al.*, 1999; IRTIZA *et al.*, 2015).

É reconhecido que a inflamação relacionada ao câncer, induzida por mutações de genes, inibem a apoptose, estimulam a angiogênese, proliferação celular, promovem o crescimento e progressão tumoral (ZANG H. 2012, BANIYASH M.2006, VIDAL-VANACLOCHA F.2009, ZIHAN SUN, 2013). Em razão disto, fez-se uma revisão de literatura para associação dos SNPs rs16944 e rs1143627 que estão associados aos desenvolvimento de diversas doenças dentre estas diferentes tipos de câncer.

Para o SNP rs16944, foram encontradas vinte publicações sendo elas: uma meta-análise em dezembro de 2010 para câncer de mama em uma população da Ásia e da Europa; no ano seguinte outra publicação também para câncer de mama, contudo sendo um estudo clínico “co-hort” na população da Noruega; em 2012 encontramos quatro trabalhos, relacionado ao câncer de próstata nos Estados Unidos, na Índia para câncer de mama, dois na

Romênia realizado pelo mesmo grupo, sendo um para adenocarcinoma gástrico e o outro para câncer colo-retal ambos estudo caso-controle.

Em 2013 foram publicados três estudos relacionados ao câncer de mama, câncer de esôfago e mama nas populações de Estados Unidos, China e Estados Unidos, respectivamente. No ano de 2014, encontramos quatro publicações referentes a adenocarcinoma tipo cárdia (caso-controle); mieloma (meta-análise); câncer gástrico(co-hort) na Alemanha; câncer retal (estudo retrospectivo) na Espanha. No ano de 2015 foram encontrados quatro estudos referentes a câncer de próstata na China (meta-análise); carcinoma cervical (caso-controle) Índia; Linfoma não-Hodgkin (meta-análise) Estados Unidos e outros países; câncer de próstata (caso-controle) na Turquia. No ano de 2016 foi publicado um artigo sobre leucemia mielóide aguda (Co-hort multicêntrico) nos Estados Unidos (Tabelas 1).

Para o polimorfismos SNP rs1143627, foram encontradas dezesseis publicações entre os anos de 2007 e 2016, sendo: uma publicação em 2007 para câncer do trato aero-digestivo superior (caso-controle) nas populações dos países Romênia, Polônia, Rússia, Eslováquia e República Checa em uma pesquisa multicêntrica. No ano seguinte, 2010 foram encontrados dois estudos um para câncer de pulmão (estudo clínico randomizado) nos Estados Unidos e outro para câncer de mama (meta-análise). No ano de 2011 três estudos, duas meta-análises uma para carcinoma-hepatocelular e outra para câncer de mama e o último estudo trata-se de carcinoma de pele em um estudo caso controle (multicêntrico) nas populações da Hungria, Romênia e Eslováquia. Em 2012 um estudo sobre carcinoma hepato-celular (caso-controle) na China.

No ano de 2013, uma publicação para câncer de mama nos Estados Unidos (caso-controle) e outra câncer colo-retal (co-hort) na Dinamarca. Em 2014 três estudos sobre carcinoma de tireóide (caso-controle) na Coreia; câncer colo-retal (estudo clínico randomizado) na Espanha e câncer de próstata (estudo co-hort). Em 2015 três estudos, uma meta-análise Linfoma não-Hodgkin nos Estados Unidos e cinco Países europeus; um estudo sobre câncer de próstata (caso-controle) na Turquia e câncer retal (estudo clínico randomizado) na China. (Tabela 2).

Tabela 1. Revisão de literatura para o SNP 16944.

Autor	Doença	N amostral	População	Material biológico	Técnica
L. Sung <i>et al.</i> 2016	Infecção em paciente com LMA	254 crianças e adolescentes	Estados Unidos e Canadá	Linfócitos de sangue e mucosa bucal	SNP array
Yencilek F <i>et al.</i> 2015	Câncer de próstata	Caso= 71 Controle= 76	Turquia	Sangue	Real time- PCR
Kane E <i>et al.</i> 2015	Linfoma não-Hodgkin	Caso= 4979	Estados Unidos e cinco países	***** Caso biópsia Controle suabe cervical	***** PCR-RFLP
Dutta S <i>et al.</i> 2015	Carcinoma cervical	Caso= 110 Controle= 111 9 estudos publicados até agosto de 2014	Índia	*****	*****
Xu H <i>et al.</i> 2015	Câncer de próstata		China	*****	*****
Dzhugashvili M <i>et al.</i> 2014	Câncer retal	159 pacientes	Espanha	Sangue periférico	Real time- PCR
Van der Ploeg AH <i>et al.</i> 2014	Câncer gástrico	154 pacientes	Alemanha	Sangue total	PCR em gel
Martino A <i>et al.</i> 2014	Mieloma	caso= 1498 Controle= 1934	Polônia	Amostras de sangue	*****
Wang X <i>et al.</i> 2014	Adenocarcinoma tipo cárdia	Caso= 243 Controle= 476	China	Amostras de sangue	PCR-Multiplex TaqMan SNP Genotyping Assays
Kiyohara <i>et al.</i> 2014	Câncer de Pulmão	Caso= 462 Controle= 379	Japão	Amostras de sangue	

Tabela 1 continuação. Revisão de literatura para o SNP 16944.

Autor	Doença	N amostral	População	Material biológico	Técnica
Xu H <i>et al.</i> 2015	Câncer de próstata	9 estudos publicados até 2014	China	*****	*****
Dzhugashvili M <i>et al.</i> 2014	Câncer retal	159 Pacientes	Espanha	Sangue periférico	Real time-PCR
Van der Ploeg AH <i>et al.</i> 2014	Câncer gástrico	154 pacientes	Alemanha	Sangue periférico	PCR em gel
Martino A <i>et al.</i> 2014	Mieloma	Caso=1498 Controle=1934	Polônia	Amostras de sangue	*****
Wang X <i>et al.</i> 2014	Adenocarcinoma tipo cárdia	Caso=243 Controle=476	China	Amostras de sangue	PCR-Multiplex TaqMan
Kiyohara <i>et al.</i> 2014	Câncer de pulmão	Caso=462 Controle=379	Japão	Amostras de sangue	Genotyping Assays
Gong Z <i>et al.</i> 2013	Câncer de mama	Caso=793 Controle=721	EUA	Amostras de sangue	MassARRAY
Zheng L <i>et al.</i> 2013	Câncer de esôfago	Caso=380 Controle=380	China	Amostras de sangue	*****
Bower JE <i>et al.</i> 2013	Câncer de mama	171 pacientes	EUA	Sangue periférico	Real time-PCR
Burada F <i>et al.</i> 2012	Câncer colorretal	Caso-144 Controle=233	Romênia	Amostras de sangue	PCR

Tabela 2. Revisão de literatura para o SNP 1143627.

Autor	Doença	N amostral	População	Material biológico	Técnica
Zang H <i>et al.</i> 2015	Câncer retal	356 pacientes	China	Amostras de sangue	Real time- PCR
Yencilek F. <i>et al.</i> 2015	Câncer de próstata	Caso= 71 controle=76	Turquia	Amostras de sangue	Real time- PCR
Yencilek F. <i>et al.</i> 2016	Câncer de próstata	Caso= 68 controle= 78	Turquia	Amostras de sangue	RT-PCR
Kane E. <i>et al.</i> 2015	Linfoma não-Hodgkin	Caso= 5844 controle= 6167	EUA e cinco países europeus	*****	*****
Xu H <i>et al.</i> 2014	Câncer de próstata	*****	Diversas populações	*****	*****
Dzhugashvili M <i>et al.</i> 2014	Câncer retal	159 pacientes	Espanha	Sangue periférico	TaqMan
Andersen v. <i>et al.</i> 2013	Câncer colo-retal	Caso= 970 controle= 1789	Dinamarca	Amostras de sangue	PCR- KASPT™
Zhihong <i>et al.</i> 2013	Câncer de mama	EA caso= 650 AA= 864	EUA	Amostras de sangue	MassARRAY
Ban J Y <i>et al.</i> 2014	Carcinoma de tireóide	Caso= 93 Controle= 324	Coreia	Sangue periférico	PCR
Yang Y <i>et al.</i> 2012	Carcinoma hepatocelular	Caso= 772 controle= 852	China	Leucócitos	TaqMan
Rizzato c. <i>et al.</i> 2011	Carcinoma de pele	Caso= 529 controle= 532	Hungria, Romênia e Eslováquia	Amostras de sangue	PCR
Peng S. <i>et al.</i> 2011	Câncer de mama	*****	*****	*****	GWASs
Jin F <i>et al.</i> 2011	Carcinoma hepatocelular	*****	*****	*****	*****
Liu X <i>et al.</i> 2010	Câncer de mama	*****	*****	*****	*****
Jatoi <i>et al.</i> 2010	Câncer de pulmão	471 pacientes	EUA		SNPstream e TaqMan
Campa D <i>et al.</i> 2010	Câncer do trato aero digestivo superior				TaqMan

Adicionalmente, informações acerca da ancestralidade genética ou genômica correspondem as características biológicas compartilhadas por indivíduos de uma população da mesma região geográfica (RIBEIRO *et al.*, 2016). Estes estudos também podem ser úteis em análises epidemiológicas, investigações de doenças de etiologia genética, infecciosa e multifatorial (Pena *et al.* 2009, *apud* RIBEIRO *et al.*, 2016).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo e resulta de mais de cinco séculos de cruzamentos entre três populações ancestrais principais - europeus, africanos, ameríndios - e recentemente asiáticos (Pena *et al.* 2009, *apud* RIBEIRO *et al.*, 2016). Esta miscigenação pode ser facilmente observada pela diversidade cultural e características fenotípicas nesta população (Parra *et al.*, 2003 *apud* RIBEIRO *et al.*, 2016).

Portanto, diferenças étnicas também estão frequentemente associadas com a suscetibilidade de condições específicas de saúde e comportamento relacionado á saúde (Schuster *et al.* 2012 *apud* RIBEIRO *et al.*, 2016). Diante disto, o uso de marcadores genéticos, para caracterização do forte “background” da ancestralidade, sugerem que disparidades não são apenas étnicas, mas também socioeconômicas (RIBEIRO *et al.*, 2016).

Destaca-se que a relação entre saúde e etnia, ancestralidade genética e ainda ancestralidade geográfica é complexa e tais variáveis podem sobrepor-se (Ali-Khan *et al.*, 2011. *apud* RIBEIRO *et al.*, 2016). A investigação de variantes genéticas associadas a única resposta a medicamentos entre indivíduos de diferentes ancestralidade podem conduzir a uma terapia medicamentosa mais personalizada.

Em um estudo que analisou diferenças farmacológicas à droga, obersou-se que brasileiros e mexicanos tinham frequências significativamente diferentes para variantes associadas com a diminuição da função do gene *CYP2D6*, quando comparados aos europeus, africanos ou nativos americanos (Bonifaz-Pena *et al.*, 2014. *apud* Ribeiro *et al.*, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar se os polimorfismos *IL-1BF1* (rs16944) e *IL-1BE1* (rs1143627) do gene da interleucina pró-inflamatória *IL-1B* têm associação com o risco ao desenvolvimento de câncer gástrico em uma população do norte do Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar os polimorfismos *IL-1BF1* (rs16944) e *IL-1BE1* (rs1143627) em pacientes com câncer gástrico e indivíduos sem câncer da população.
- Comparar os genótipos de pacientes diagnosticados com câncer gástrico com os sem câncer;
- Definir haplótipos de risco ao desenvolvimento de câncer gástrico;
- Relacionar os haplótipos à ancestralidade e suas respectivas proporções.
- Associar dados clínicos com os haplótipos observados do gene *IL-1B*.

3 MATERIAS E MÉTODOS

3.1 Casuísticas

Este estudo trata-se do tipo caso-controle. Para tanto, participaram 202 indivíduos (86 pacientes diagnosticados com câncer por meio de análise histopatológica e 116 indivíduos sem câncer). As amostras analisadas foram procedentes do sangue periférico de indivíduos residentes na cidade de Belém no Estado do Pará.

Antes da coleta do material biológico todos os participantes deste estudo foram devidamente esclarecidos a respeito da pesquisa da qual participaram, em seguida solicitou-se que assinassem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Desta maneira, permitiram a obtenção das alíquotas de sangue e uso de seus dados gerados a partir das análises para a realização do presente estudo.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob o número 466/12.

3.2 Coleta de amostras e extração de DNA

As amostras de sangue periférico foram coletadas de pacientes da Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON/HUJBB-UFPA).

O material genético foi extraído a partir de sangue total, a partir dos 5 ml de sangue periférico dos 184 participantes da pesquisa, utilizando se EDTA como anticoagulante. A extração e purificação do DNA foi feita com o kit comercial de DNA da Roche (©Roche Diagnostics 1996-2015). A determinação da concentração do DNA fez se com espectrofotômetro NanoDrop™ ND-1000 (Thermo Scientific). Por fim, o DNA purificado está armazenado à -80°C no Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da UFPA, para esta e posteriores análises.

3.3 Seleção do SNP, genotipagem dos polimorfismos e análise dos dados

Os SNPs do gene da interleucina *IL-1B* foram pesquisados no banco de dados do NCBI (National Center for Biotechnology Information) em artigos publicados por meio de palavras chaves “Gastric+câncer+IL-1beta+and+SNP”, onde os polimorfismos rs16944 e

rs1143627 foram associados ao desenvolvimento de câncer gástrico em diferentes populações.

Desta maneira, os dois polimorfismos *IL-1BF1* (rs16944) e *IL-1BE1* (rs1143627) do tipo SNP no gene da citocina pró-inflamatória *IL-1B* foram genotipados, por meio de sondas marcadas com fluóforo VIC/FAM (Real Time PCR, Life Technologies, CA, USA) e as amostras genotipadas de acordo com as recomendações do protocolo do fabricante.

Posteriormente, a análise molecular dos dois SNPs foi realizada por PCR em Tempo Real com sondas TaqMan® (Applied Biosystems®, Foster City, Califórnia, EUA) utilizando-se o equipamento 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). O sistema TaqMan utiliza um conjunto de primers e uma sonda fluorescente para possibilitar a detecção de um produto específico conforme seu acúmulo durante os ciclos da reação. O protocolo utiliza 3.5 µL de Master Mix, 0.157 µL de sondaTaqMan, 3.325 µL de água e 1.0 µL de DNA. O mix final foi amplificado com o seguinte programa: 10' a 95°C, 40 ciclos de 15" a 92°C, e 1' a 60°C. Para tanto, as análises Bioestatísticas foram realizadas no programa SPSS v.20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA) seguindo se á interpretação dos dados.

4 RESULTADO

A Tabela 3 evidência os dados clínicos dos pacientes com câncer gástrico. As informações clínicas dos pacientes mostram que 72,9% eram tabagista; e 85,1% eram etilista. Entre os indivíduos com dados para infecção por *H. Pylori*, 85,3% não tinham histórico de infecção e 14,7% tinham. Para o tipo histopatológico, 100% foram diagnosticados com adenocarcinoma gástrico. Entre os 30 indivíduos para a classificação de Lauren, 63,3% foi do tipo difuso e 36,7% do tipo intestinal.

Tabela 3. Dados clínicos dos pacientes com câncer gástrico.

Características	N	%
Tabagismo	N (48)	
Sim	35	72,9
Não	13	27,1
Etilismo	N (47)	
Sim	40	85,1
Não	7	14,9
Quimioterapia	N (34)	
Sim	3	8,8
Não	31	91,2
Infecção por H. Pylori	N (34)	
Não	29	85,3
Sim	5	14,7
Tipo Histológico	N (53)	
Adenocarcinoma	53	100
Classificação de Lauren	N (30)	
Difuso	19	63,3
Intestinal	11	36,7
Histórico CA família	N (46)	
Sim	22	52,2
Não	24	47,8

A Tabela 4 evidencia as variáveis demográficas relacionadas ao sexo, idade, ancestralidade genética (europeu, africano, ameríndio) nos grupos caso e controle. No grupo caso 61 indivíduos eram do gênero masculino e 25 do feminino. No grupo controle 43 indivíduos eram homens e 73 mulheres, houve diferença significativa entre os grupos ($p=2,233E-6$). Para idade, no grupo caso a média foi 57,75 e do grupo controle foi de 52,75 ($p=0,057$). Para a ancestralidade genética, no grupo caso, as médias foram: 0,425 para europeu; 0,275 para africano; 0,299 para ameríndio. No grupo controle as médias foram: 0,5468 para europeu; 0,2005 para africano; 0,287034 para ameríndio. Houve diferenças significantes entre os grupos para as ancestralidades europeia com ($p= 5,179E-10$) e africana ($p= 1,718E-8$).

Tabela 4. Variáveis demográficas dos grupos caso e controle.

Variáveis	Caso	Controle	p-valor
Sexo (M/F) ^a	61/25	43/73	2,233E-6
Idade ^b	57,75±11,997	52,75±12,349	0,057
Ancestralidade Genética ^b			
Europeu	0,425±0,113	0,5468±0,1414	5,179E-10
Africano	0,275±0,110	0,2005±0,128	1,718E-8
Ameríndio	0,299±0,108	0,287034±0,150438	0,077

^avalores expressos como média ± DP (desvio-padrão). Significância determinado pelo teste Exato de Fisher.

^bvalores expressos como média ± DP (desvio-padrão). Significância determinado pelo teste de Mann Whitney.

A Tabela 5 apresenta a distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos do gene da *IL-1B* entre os pacientes com câncer gástrico e o grupo controle. Para o polimorfismo *IL-1BF1* (rs16944), no grupo caso 34,9% apresentaram o genótipo TT; 44,6% TC e 20,5% CC. As frequências alélicas para o grupo caso foram C =0,427 e T=0,573. Em relação a distribuição genotípica para o grupo controle em percentagens foram de: TT=34,8; TC=42,6; CC=22,6. Com as frequências alélicas de: T=0,556 e C= 0,444.

Para o Polimorfismo *IL-1BE1* (rs1143627) as frequências genotípicas em percentagens para os grupos foram as seguintes: (i) caso com CC=27,4; CT=47,6; TT=25. As frequências alélicas foram de: C=0,512; T= 0,488; (ii) controle CC=25,9; CT=40,5; TT=33,6 e suas frequências alélicas foram: C=0,461; T= 0,539. Não houve diferenças estatisticamente significativa entre os grupos para os dois polimorfismo estudados do gene *IL-1B*.

Tabela 5. Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos do gene *IL-1B* entre os

Genótipo	Caso (%)	Controle (%)	<i>p</i>-valor*	OR(IC95%)*
<i>IL-1BF1</i> (rs16944)	83	116		
TT	29(34,9)	40(34,8)		
TC	37(44,6)	49(42,6)		
CC	17(20,5)	26(22,6)	0,770	1,13 (0,474-2,705)
Alelo <i>T</i>	0,573	0,556		
Alelo <i>C</i>	0,427	0,444		
<i>IL-1BE1</i> (rs1143627)	84	116		
CC	23(27,4)	30(25,9)		
CT	40(47,6)	47(40,5)		
TT	21(25,0)	39(33,6)	0,313	0,679 (0,318-1,42)
Alelo <i>C</i>	0,512	0,461		
Alelo <i>T</i>	0,488	0,539		

pacientes com câncer gástrico e população controle.

*ajustado por sexo, idade e ancestralidade africana e europeia.

A Tabela 6 mostra a distribuição dos haplótipos do gene da *IL-1B* para os polimorfismos *IL-1BE1* rs1143627 (-31), *IL-1BF1* rs16944 (-511). Quatro haplótipos foram encontrados para os grupos caso e controle. O haplótipo mais frequente nos grupos foi **TT**, observado em 47% do grupo caso e 53% no grupo controle. O haplótipo menos frequente foi **CT**, presente em 3% do grupo caso e 1% do grupo controle. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos para nenhuns dos haplótipos encontrados.

Tabela 6. Haplótipos do IL-1B e sua associação à susceptibilidade ao câncer gástrico.

	Haplótipos SNP		Caso	Controle	OR (IC 95%)*	p-valor*
	-511 (<i>IL-1BF1</i>)	-31 (<i>IL-1BE1</i>)				
1	T	C	0,11	0,03	1	-
2	T	T	0,47	0,53	5,33(2,65-8,62)	0,987
3	C	C	0,39	0,43	1,36(0,358-5,234)	0,644
4	C	T	0,03	0,01	0,43(0,046-3,240)	0,426

*ajustado por sexo, idade e ancestralidade africana e europeia.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, entre os indivíduos diagnosticados com câncer gástrico (CG), 72,9% eram tabagistas e 85,1% etilista. O tabaco é utilizado de diferentes formas em todo o mundo. A forma mais comum de uso do tabaco é o fumo do cigarro que é conhecido por causar diversos tipos de câncer incluindo o câncer gástrico. Diversos trabalhos já mostraram a relação direta do risco de câncer gástrico com o hábito tabagista (GUPTA,2004; JAYALEKSHMI *et al.*, 2015) portanto, nossos resultados também corroboram estes achados.

O etilismo também é um hábito comum, contudo a bebida consumida e o nível de consumo pode variar entre os diferentes países. Em um estudo específico, no sul da Índia, o tipo de bebida consumida mostrou uma significativa associação com o risco e aumento do desenvolvimento de câncer gástrico (JAYALEKSHMI *et al.*, 2015).

Em nosso estudo, daqueles pacientes com infecção por *H. pylori*, 85,3% não apresentaram histórico de infecção, contra 14,7%. A *H. pylori* representa o principal carcinógeno para o desenvolvimento do CG de acordo com a Organização Mundial de Saúde (JEMAL *et al.*, 2011; PLOEG; KUMPF; SEELow, 2014). Sabe-se que o processo de inflamação é um fator de risco para muitos tipos de câncer. Uma das principais razões para inflamação crônica do estômago é a colonização por *H. pylori*. Embora a metade da população tenha sido infectada por *H. pylori*, apenas 3% são diagnosticados com câncer gástrico o que pode refletir a influência de fatores ambientais, assim como do “background” genético do hospedeiro (KAMANGAR *et al.*, 2006; PLOEG; KUMPF; SEELow, 2014).

Variações genéticas que afetam a resposta imune tem sido associadas com o risco ao desenvolvimento de doenças incluindo câncer gástrico. É estabelecido que membros família da citocina pró-inflamatória IL-1B estão envolvidos em múltiplos aspectos da biologia do tumor como carcinogênese, metástase e angiogênese (DINARELLO, 2009; PLOEG; KUMPF; SEELow, 2014). Polimorfismos de único nucleotídeo localizados na região promotora do gene *IL-1B*, estão ligados ao desenvolvimento do câncer, foi demonstrado que estes interferem na atividade transcricional do gene *IL-1B* (AP *et al.*, 2000; PLOEG; KUMPF; SEELow, 2014) (IRTIZA *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2013). O gene que codifica a interleucina 1-B tem dois polimorfismos dialélicos na região promotora nas posições -511 (rs16944) e -31 (rs1143627), os quais representam transições C>T e T>C respectivamente, em desequilíbrio quase total de ligação (HAMAJIMA *et al.*, 2002; IRTIZA *et al.*, 2015). Os

alelos do gene $IL-1B^{-511T}$ e $IL-1B^{-31C}$ estão associados aos altos níveis de citocina, com a inflamação grave e câncer de estômago, enquanto $IL-1B^{-511C}$ e $IL-1B^{-31T}$ estão associados com os baixos níveis de IL-1B (MARTÍNEZ-CARRILLO *et al.*, 2010). (BIDWELL *et al.*, 1999; IRTIZA *et al.*, 2015). Além disso, foi observado *in vitro* que o polimorfismo -31 (rs1143627) TATA-box afeta a interação DNA, fatores de transcrição, embora este polimorfismo pode modular a produção de IL-1B afetando significativamente sua transcrição (ITO; OBA, 2002; KIM *et al.*, 2008; MARTÍNEZ-CARRILLO *et al.*, 2010).

OMAR *et al.* 2003 foi o primeiro a demonstrar que o polimorfismo do gene $IL-1B$ estava associado com câncer gástrico, e diversos estudos subsequentes têm confirmado esta correlação (OMAR *et al.*, 2003). Posteriormente, estes SNPs foram associados ao aumento do risco do desenvolvimento de câncer gástrico em escoceses e poloneses. e posteriormente sugeriu-se em outros grupos étnicos nos EUA (IRTIZA *et al.*, 2015; OMAR *et al.*, 2003), e em Portugal (MACHADO *et al.*, 2003).

Em um estudo de população caso-controle fez se a genotipagem e análise de expressão dos polimorfismos. Os resultados sugerem diminuição do risco de desenvolvimento de câncer gástrico associado tanto ao $IL-1B^{-31T}$ como os genótipos variantes da $IL-1B^{-511C}$. A diminuição do risco foi significativa entre indivíduos que apresentaram aumento da expressão da $IL-1B$, sugerindo que as variantes na região promotora podem desempenhar um papel importante na carcinogênese gástrica e podem modular este processo, como sugerido em uma população da Caxemira (IRTIZA *et al.*, 2015).

Adicionalmente, conforme OMAR *et al.*, 2003, a associação do polimorfismo com câncer gástrico requer a presença de *H. pylori* que pode ser muito importante em estágios iniciais da doença. Quando a bactéria infecta a mucosa gástrica, induz a uma vigorosa resposta inflamatória com altos níveis de IL-1B. Os efeitos diretos dessa citocina são vantajosos para erradicação da bactéria pelo organismo, entretanto a concomitante inibição da secreção de ácido gástrico, pode ampliar a área de colonização da bactéria. O papel crítico do ácido na determinação do padrão de gastrite é bem evidenciado por mudanças decorrentes de sua inibição farmacológica. Pacientes *H. pylori* infectados, a longo prazo de tratamento com inibidores de bomba de prótons podem passar uma um quadro gastrite exacerbada (OMAR *et al.*, 2003).

Com isso, a diminuição de secreções gástricas e o acúmulo de subprodutos genotóxicos os quais promovem a inflamação, aumentam os danos à mucosa gástrica e da taxa de mutação. O meio hipoclorídrico, decorrente da infecção por *H. pylori* também

promove o crescimento de outras bactérias não *H. pylori* que contribuem com danos na mucosa gástrica e com a progressão da gastrite leve para uma gastrite mais severa; atrofia; metaplasia intestinal e finalmente, dificultando a detecção da bactéria (OMAR *et al.*, 2003).

A concentração de IL-1B produzida pelo epitélio inflamado é influenciado pelos polimorfismo dialélicos nas posições -511T>C (rs16944) e -31C>T (rs1143627). Dado que a IL-1B é fortemente inibida pela secreção de ácido gástrico e pode contribuir para a dispersão de *H. pylori*. Desta forma, o polimorfismo no gene *IL-1B* pode ser considerado um fator chave para a determinar o padrão desenvolvimento da gastrite e risco de transformação maligna. Os alelos do gene *IL-1B*^{511T} e *IL-1B*^{31C} estão associados aos altos níveis de citocina, com a inflamação grave e câncer de estômago, enquanto *IL-1B*^{511C} e *IL-1B*^{31T} estão associados com os baixos níveis de IL-1B. essa associação com infecção por *H. pylori* ou câncer gástrico não tem sido significativa em todas as populações (MARTÍNEZ-CARRILLO *et al.*, 2010; SIERRA *et al.*, 2008).

O efeito dos genótipos *IL-1B*^{31CT/TT} e *IL-1B*^{511TC/CC} em relação ao risco de gastrite crônica foi maior quando ajustado para fatores como idade, local de origem, escolaridade, tabagismo, histórico familiar de infecção por *H. pylori*. Portanto, os hábitos e estilos de vida dos indivíduos estudados modificaram o risco do desenvolvimento de gastrite crônica, constituindo-se desta forma um modelo multifatorial de patologia gástrica que inclui o alojamento da bactéria e o ambiente (MARTÍNEZ-CARRILLO *et al.*, 2010).

Todos estes fatores são determinantes para a carcinogênese gástrica, entretanto é necessário considerar outro de grande relevância que é o tipo de carga da bactéria *H. pylori*, assim como ancestralidade genômica do hospedeiro (polimorfismos). Em vista disso, estudos realizados recentemente evidenciam que a origem da *H. pylori* pode ser dividida em sete populações globais e subpopulações com distintas distribuições geográficas e populações ancestrais geneticamente derivadas como as da África (AHN; LEE, 2015; KODAMAN *et al.*, 2014).

O presente estudo evidenciou que a distribuição da ancestralidade genômica (europeu, africano, ameríndio) apresentou diferenças significativas entre os grupos de europeus ($p=5,179E-10$) e africanos ($p=1,718E-8$). Apesar disso, quatro haplótipos foram encontrados tanto no grupo caso, quanto no grupo controle. O haplótipo mais frequente tanto no grupo caso quanto no grupo controle foi **TT** 47% e 53%, respectivamente. O haplótipo menos frequente foi **CT** presente em 3% no grupo caso e 1% no grupo controle. Não houve diferença estatística entre os grupos para nenhum dos haplótipos encontrados.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho buscou desenvolver estudo de população caso-controle para o risco ao desenvolvimento de câncer gástrico, mediado pelos SNPs rs16944 e rs1143627 do gene da citocina pró-inflamatória *IL-1B*, considerando aos dados clínicos dentre os quais destacamos: tabagismo, etilismo, infecção por *H. pylori* e tipo histológico.

De modo geral, a etiologia do câncer é multifatorial, por isso é necessário avaliar os efeitos combinados de fatores moleculares, estilo de vida, infecção por *H. pylori* assim como suas respectivas cepas e fatores de virulência, mas sobretudo fatores genéticos do paciente como os polimorfismos aqui estudados.

Visto que os polimorfismos aqui estudados são de relevância no desenvolvimento do CG e que os trabalhos de outros grupos os apontam como um fator determinante para a carcinogênese gástrica em outras populações, necessita-se de estudos e análises mais abrangentes, para auxiliar o melhor entendimento dos motivos pelos quais nesta população estudada, tais polimorfismos parecem não apresentarem associação com o desenvolvimento da doença em questão.

7 REFERÊNCIAS

AHN, H. J.; LEE, D. S. Helicobacter pylori in gastric carcinogenesis. **World journal of gastrointestinal oncology**, v. 7, n. 12, p. 455–65, 2015.

ALZHRANI, S. Effect of _____ on gastric epithelial cells. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 36, p. 12767, 2014.

AMADOR, M. A. T. et al. Distribution of allelic and genotypic variants in Native American , African , European and Brazilian populations. **BMC Research Notes**, p. 1–8, 2016.

AMIEVA, M. R.; EL-OMAR, E. M. Host-Bacterial Interactions in Helicobacter pylori Infection. **Gastroenterology**, v. 134, n. 1, p. 306–323, 2008.

ANGELICA, M. D.; FONG, Y. NIH Public Access. **October**, v. 141, n. 4, p. 520–529, 2008.

AP, U. A. S. et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. v. 404, n. March, p. 398–402, 2000.

ASSUMPÇÃO, C. B. DE et al. Archives of Clinical Gastroenterology Nitrite Levels Before and after Washing in Salted Fish. v. 2, p. 7–9, 2016.

BERDASCO, M.; ESTELLER, M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. **Developmental cell**, v. 19, n. 5, p. 698–711, 16 nov. 2010.

BIDWELL, J. et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. p. 3–19, 1999.

BLANES, A.; DIAZ-CANO, S. J. Complementary analysis of microsatellite tumor profile and mismatch repair defects in colorectal carcinomas. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 37, p. 5932–5940, 2006.

BROCKER, C. et al. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. **Human genomics**, v. 5, n. 1, p. 30–55, 2010.

CARDENA, M. et al. Mitochondrial and genomic ancestry are associated with etiology of heart failure in Brazilian patients. n. November 2014, p. 1–4, 2015.

COLOTTA, F. et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 7, p. 1073–81, jul. 2009.

DENARDO, D. G.; ANDREU, P.; COUSSENS, L. M. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity. **Cancer metastasis reviews**, v. 29, n. 2, p. 309–16, jun. 2010.

DIAZ-CANO, S. J. Tumor heterogeneity: Mechanisms and bases for a reliable application of molecular marker design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 2, p. 1951–2011, 2012.

DINARELLO, C. A. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. 2009.

DUQUE, G. A.; DESCOTEAUX, A. Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. OCT, p. 1–12, 2014.

DVORAK, H. F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. **The New England journal of medicine**, v. 315, n. 26, p. 1650–9, 25 dez. 1986.

EDER, C. Mechanisms of interleukin-1?? release. **Immunobiology**, v. 214, n. 7, p. 543–553, 2009.

EL-HUSNY, A. et al. CDH1 mutations in gastric cancer patients from northern Brazil identified by Next- Generation Sequencing (NGS). v. 198, p. 189–198, 2016.

ESSADIK, A. et al. Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha in Moroccan Patients with Gastric Pathology: New Single-Nucleotide Polymorphisms in TNF-?? -193 (G/A). **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

ESTELLER, M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. **Nature reviews. Genetics**, v. 8, n. 4, p. 286–98, abr. 2007.

EXAMINATION, H. of Gastric Cancer. **English Journal**, v. 345, n. 11, p. 784–789, 2005.

GOMCELI, I.; DEMIRIZ, B.; TEZ, M. Gastric carcinogenesis. v. 18, n. 37, p. 5164–5170, 2012.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883–99, 19 mar. 2010.

GUPTA, P. C. Report on Tobacco Control in India Edited by. [s.d.].

HAMAJIMA, N. et al. Helicobacter Pylori Seropositivity , the Interleukin 1B

Polymorphism , and Smoking among First-visit Outpatients. v. 3, p. 23–28, 2002.

HAMILTON, J. P.; MELTZER, S. J. A Review of the Genomics of Gastric Cancer. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 4, n. 4, p. 416–425, 2006.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

HUTZ, M. H.; SANTOS, S. E. B. Assessing Individual Interethnic Admixture and Population Substructure Using a 48 – Insertion-Deletion. 2009.

Inca. [s.l.: s.n.].

IRTIZA, S. et al. IL-1 β Polymorphism and Expression Associated with Decreased Risk of Gastric Carcinoma : a Case Control Study in the Ethnic Kashmiri Population , India. v. 16, p. 1987–1992, 2015.

ITO, L. S.; OBA, S. Helicobacter pylori seropositivity and IL-1B C-31T polymorphism among Japanese Brazilians. p. 321–326, 2002.

JACKSON, S. P.; BARTEK, J. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, v. 461, n. 7267, p. 1071–8, 22 out. 2009.

JAYALEKSHMI, P. A. et al. Gastric cancer risk in relation to tobacco use and alcohol drinking in Kerala , India - Karunagappally cohort study. v. 21, n. 44, p. 12676–12685, 2015.

JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 61, n. 2, p. 69–90, 2011.

JONES, P. A.; BAYLIN, S. B. The epigenomics of cancer. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 683–92, 23 fev. 2007.

KARNOUB, A. E.; WEINBERG, R. A. Chemokine networks and breast cancer metastasis. **Breast disease**, v. 26, p. 75–85, [s.d.].

KASTAN, M. B. DNA damage responses: mechanisms and roles in human disease: 2007 G.H.A. Clowes Memorial Award Lecture. **Molecular cancer research : MCR**, v. 6, n. 4, p. 517–24, abr. 2008.

KIM, J.; KIM, Y.; LEE, K. A. Ethnic differences in gastric cancer genetic susceptibility: Allele flips of interleukin gene. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 16, p. 4558–4565, 2014.

KIM, S. et al. Association of – 31T > C and – 511 C > T polymorphisms in the

interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. n. November, p. 2109–2116, 2008.

KODAMAN, N. et al. Human and Helicobacter pylori coevolution shapes the risk of gastric disease. v. 111, n. 4, 2014.

LANE, D. P. Cancer. p53, guardian of the genome. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 15–6, 2 jul. 1992.

LOPEZ-CASTEJON, G.; BROUGH, D. Understanding the mechanism of IL-1?? secretion. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 22, n. 4, p. 189–195, 2011.

LOTZE, M. T. et al. The grateful dead: damage- associated molecular pattern molecules and reduction / oxidation regulate immunity. n. 1, p. 60–81, 2007.

MACHADO, J. C. et al. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. **Gastroenterology**, v. 125, n. 2, p. 364–71, ago. 2003.

MACKENZIE, A. et al. Rapid Secretion of Interleukin-1 ⁿ by Microvesicle Shedding. v. 8, p. 825–835, 2001.

MANUSCRIPT, A. NIH Public Access. v. 147, n. 4, p. 469–474, 2011.

MARTÍNEZ-CARRILLO, D. N. et al. Association of IL1B -511C / -31T haplotype and Helicobacter pylori vacA genotypes with gastric ulcer and chronic gastritis. **BMC Gastroenterology**, v. 10, n. 1, p. 126, 2010.

MCMAHAN, C. J. et al. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. **The EMBO journal**, v. 10, n. 10, p. 2821–2832, 1991.

META-ANALYSIS, R. A. et al. Interleukin-1B Polymorphisms and Gastric Cancer. v. 15, n. October, p. 1920–1928, 2006.

OMAR, E. M. E. L. et al. Increased Risk of Noncardia Gastric Cancer Associated With. v. 5085, n. 03, p. 1193–1201, 2003.

PARK, Y. H.; KIM, N. Review of Atrophic Gastritis and Intestinal Metaplasia as a Premalignant Lesion of Gastric Cancer. v. 20, n. 1, p. 25–40, 2015.

PARSONNET, J. et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative Helicobacterpylori infection. **Gut**, v. 40, p. 297–301, 1997.

PEEK, R. M.; CRABTREE, J. E. Helicobacter infection and gastric neoplasia. **Journal of Pathology**, v. 208, n. 2, p. 233–248, 2006a.

PEEK, R. M.; CRABTREE, J. E. Helicobacter infection and gastric neoplasia. **The Journal of pathology**, v. 208, n. 2, p. 233–48, jan. 2006b.

PLOEG, A. H. VAN DER; KUMPF, O.; SEELow, E. The course of gastric cancer following surgery is associated with genetic variations of the interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 b. v. 1, p. 1–7, 2014.

POLK D BRENT, P. R. M. Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. **Nat Rev Cancer**, v. 10, n. 6, p. 403–414, 2010.

QIAN, B.-Z.; POLLARD, J. W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. **Cell**, v. 141, n. 1, p. 39–51, 2 abr. 2010.

QUAIL, D.; JOYCE, J. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature medicine**, v. 19, n. 11, p. 1423–1437, 2013.

RIBEIRO, B. et al. Neither self-reported ethnicity nor declared family origin are reliable indicators of genomic ancestry. 2016.

ROKKAS, T. et al. Population differences concerning TNF- α gene polymorphisms in gastric carcinogenesis based on meta-analysis. **Annals of gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**, v. 27, n. 2, p. 139–148, 2014.

SIERRA, R. et al. Relation of atrophic gastritis with Helicobacter pylori -CagA + and interleukin-1 gene polymorphisms. v. 14, n. 42, p. 6481–6487, 2008.

SIGAL, A.; ROTTER, V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. **Cancer research**, v. 60, n. 24, p. 6788–93, 15 dez. 2000.

TOYODA, T. et al. Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. **Histology and histopathology**, v. 23, n. 5, p. 593–9, maio 2008.

UEMURA, N. et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. **The New England journal of medicine**, v. 345, n. 11, p. 784–9, 13 set. 2001.

VAJDIC, C. M.; VAN LEEUWEN, M. T. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, v.

125, n. 8, p. 1747–54, 15 out. 2009.

VINCENZI, B. et al. Interleukin 1 β -511T gene (IL1 β) polymorphism is correlated with gastric cancer in the Caucasian population : Results from a meta-analysis. p. 1213–1220, 2008.

WICKHAM, H. The Journal. **The R Journal**, v. 5, n. June, p. 1–264, 2013.

WROBLEWSKI, L. E.; PEEK, R. M.; WILSON, K. T. Helicobacter pylori and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 4, p. 713–739, 2010.

YAHIRO, K. et al. Protein-tyrosine phosphatase α , RPTP α , is a Helicobacter pylori VacA receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 21, p. 19183–19189, 2003.

YAMAOKA, Y.; GRAHAM, D. Y. Helicobacter pylori virulence and cancer pathogenesis. **Future Oncology (London, England)**, v. 10, n. 8, p. 1487–1500, 2014.

YANG, L. et al. IL-6 -6331 (T / C , rs10499563) is Associated with Decreased Risk of Gastric Cancer in Northern Chinese. v. 14, p. 7467–7472, 2013.

YUZHALIN, A. The role of interleukin DNA polymorphisms in gastric cancer. **Human Immunology**, v. 72, n. 11, p. 1128–1136, 2011.