

NAIARA CORRÊA NOGUEIRA DE SOUZA

**POLIMORFISMO -174 (G/C) NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE DA
INTERLEUCINA 6 E O RISCO DE CÂNCER DE COLO DO ÚTERO.
ESTUDO CASO-CONTROLE**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina para obtenção do Título de
Doutor em Ciências**

São Paulo

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

NAIARA CORRÊA NOGUEIRA DE SOUZA

**POLIMORFISMO -174 (G/C) NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE DA
INTERLEUCINA 6 E O RISCO DE CÂNCER DE COLO DO ÚTERO.
ESTUDO CASO-CONTROLE**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina para obtenção do Título de
Doutor em Ciências**

**Orientador: Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim Guerreiro da Silva
Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Sylvia Michelina Fernandes Brenna**

São Paulo

2006

Souza, Naiara Corrêa Nogueira de

POLIMORFISMO –174 (G/C) NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE DA INTERLEUCINA 6 E O RISCO DE CÂNCER DE COLO DO ÚTERO. ESTUDO CASO-CONTROLE / Naiara Corrêa Nogueira de Souza – São Paulo, 2006.

31p.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim Guerreiro da Silva

Co-orientador: Profa. Dra. Sylvia Michelina Fernandes Brenna

Polymorphism an upstream promoter –174 (G/C) of the Interleukin 6 and the risk of cervical cancer: a case-control study

1. Câncer cervical
2. IL-6

3. Polimorfismo
4. Fator de risco

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA

Departamento de Ginecologia
Laboratório de Ginecologia Molecular

Chefe de Departamento

Prof. Dr. Manoel João Batista Castello Girão

Coordenador do Curso de Pós-Graduação

Prof. Dr. Edmund Chada Baracat

Orientador:

Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim Guerreiro Da Silva

Co-Orientador

Profa. Dra. Sylvia Michelina Fernandes Brenna

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Ginecologia Molecular do Departamento de Ginecologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

Através de auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (03/04533-1) e do MEC – Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

DEDICATÓRIA

*Ao meu pai, **Otamir**, que sempre acreditou em mim e viu que eu seria como ele, persistente nos meus objetivos.*

*À minha mãe, **Naide**, pilar de estruturação do meu eu; tudo que sou, devo a Senhora que para mim é o exemplo de amor incondicional.*

*À minha irmã, **Deise**, que sempre me apoiou desde a chegada em São Paulo e tem tentado compreender as minhas ausências.*

*Ao companheiro e orientador, **Ismael Dale**, com certeza essa fase seria mais difícil se eu não tivesse o seu amor e o seu apoio.*

A todos meu sincero e eterno amor.

*Às **pacientes** e as **pacientes que formaram o grupo controle**, pois sem elas esse trabalho não seria possível.*

Minha eterna gratidão e respeito.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida maravilhosa e por todas as oportunidades que tenho.

Aos amigos **Oswaldo Alves Mora** (*in memoriam*) e **Olga Maria de Toledo Corrêa**, pela porta que me foi aberta e incentivo ao ingressar no doutorado.

À **Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM)**, por me receber e por ser essa instituição de conhecimento sem limites.

Ao **Departamento de Ginecologia** e a **Pós-graduação de Ginecologia**, por ter me dado a oportunidade de conseguir o título e de prestar serviço aos seus pós-graduandos, com isso adquirindo maior conhecimento no tempo em que fiz o meu doutorado.

À **Dr^a Sylvia Michelina Fernandes Brenna** e sua **equipe do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros**, que nos confiou material tão precioso para que pudéssemos desenvolver essa pesquisa em parceria.

À amiga **Cristina Valleta de Carvalho**, aprendi a te conhecer e respeitar e, com certeza, temos nos apoiado mutuamente nesse difícil trajeto de abdicções e lutas diárias do doutorado; muito obrigada pela sua sincera amizade.

À amiga **Beatriz Schnabel**, pela divertida e falante fase que vivemos no laboratório.

À amiga **Giannina Ricci**, pela alegria de viver e um exemplo de que nunca devemos desistir de um objetivo.

À amiga **Regina Afonso**, pelos conhecimentos transmitidos e de grande valia durante o doutorado.

À amiga **Ana Maria Massad Costa**, que sempre esteve ao meu lado quando precisei de apoio.

A todos os pós-graduandos e colegas do Laboratório de Ginecologia Molecular: **Audrey Yumi Otsuka, Fabíola Elizabeth Villanova, Julia Santucci Pereira, Paulo D'Amora, Michele Gilvana Junqueira, Helena Costa, Daniela Batista Leite, Silvana Aparecida Alves Corrêa e Cíntia Meirelles de Camargo Kosugi**, pelas trocas de ensinamentos diários.

Às técnicas do Laboratório de Ginecologia Molecular: **Ana Maria de Oliveira Taborda** e **Elenir Monteiro de Santana Pereira**, pela ajuda valorosíssima em todos os trabalhos realizados no laboratório.

Aos técnicos: **Tatiana Batista Penna dos Santos** e **Marcio Alexandre Custódio**, por terem tido a paciência de me ensinar no começo dos meus dias na biologia molecular.

Aos funcionários do Departamento e da Pós-graduação da Ginecologia: **Karin M. dos Santos**, **Zélia Maria G. Macedo**, **Valéria S. Medina** e **Felipe O. Taborda**, pela amizade e por tantos serviços e apoios prestados durante essa fase.

À amiga **Adriana Ferreira Alves**, que mesmo longe, sempre me ouviu e me apoiou durante essa nova fase de desafios da minha vida.

***“O importante é termos capacidade de sacrificar aquilo que somos
para ser aquilo que podemos ser”.***
Charles Dubois (1874-1956)

SUMÁRIO

Dedicatória.....	vi
Agradecimentos.....	vii
Lista de Siglas e Abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. TRABALHO PUBLICADO.....	6
3. DISCUSSÃO.....	12
4. CONCLUSÃO.....	16
5. ANEXOS.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ABSTRACT	

LISTA DE ABREVIATURAS

anti-IL-6R α	-	Anticorpo monoclonal contra o receptor de interleucina-6
BSF-2	-	Fator de diferenciação das células-B (B-cell differentiation factor)
C	-	Citosina
DNA	-	Ácido desoxiribonucléico
E	-	Early
HPV	-	Human Papillomavirus (Papiloma vírus humano)
G	-	Guanina
L	-	Late
LCR	-	Long Control Region
IFN	-	Interferon
IFN- γ	-	Interferon-gama
IL-1	-	Interleucina-1
IL-2	-	Interleucina-2
IL-4	-	Interleucina-4
IL-6	-	Interleucina-6
IL-10	-	Interleucina-10
Rb	-	Retinoblastoma
Th	-	T-helper
Th1	-	T-helper tipo 1
Th2	-	T-helper tipo 2
TNF- α	-	Fator de necrose tumoral-alfa

RESUMO

Estudos demonstram que polimorfismos nos genes das citocinas estão envolvidos na patogênese de várias doenças humanas neoplásicas e não neoplásicas. O polimorfismo da IL-6 parece estar envolvido com o alto risco de câncer ginecológico, inclusive câncer cervical. Este estudo, caso-controle, compara o polimorfismo da IL-6 em 56 mulheres com câncer cervical com um grupo de 253 mulheres saudáveis atendidas pelo serviço de saúde da UNIFESP/EPM. Todas foram testadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase para o gene da IL-6 e posteriormente genotipadas pela técnica de polimorfismo de fragmentos de DNA obtidos por enzimas de restrição. Os genótipos GG, GC e CC do grupo de casos e do grupo controle são estatisticamente diferentes ($p=0,033$), quando comparados aos genótipos GC e CC do grupo de câncer cervical, tendo o GG como referência. Apresentam, dessa forma, um risco aumentado de 1,90 ajustado para idade (intervalo de confiança de 95% 1,1-3,4) para desenvolverem o referido tumor. Nosso estudo sugere que mulheres infectadas com HPV, que têm ao menos um alelo C na região promotora do gene da interleucina-6 (-174G/C), têm um risco maior de desenvolver o câncer cervical.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, para o ano de 2006, estima-se que ocorrerão 472,05 mil casos novos de câncer. Os tipos mais incidentes, à exceção do de pele não melanoma, serão os de próstata e de pulmão no sexo masculino e os de mama e de colo do útero no sexo feminino. No caso do câncer cervical, espera-se uma incidência de 20 casos para cada 100 mil mulheres (Brasil, 2005).

A infecção causada pelo Papilomavírus Humano (HPV – “Human Papillomavirus”) é responsável pela infecção genital viral mais comum do trato reprodutivo no mundo, responsável por mais de 99% dos casos de câncer cervical. Estima-se que haja cerca de 600 milhões de pessoas infectadas por esse vírus no mundo, sendo que a maioria dessas infecções resolvem-se espontaneamente. No entanto, 500 mil novos casos de câncer cervical são esperados no mundo anualmente, resultando em 239 mil mortes (WHO, 2005).

Os HPVs são vírus de DNA (ácido desoxiribonucléico), pequenos, com aproximadamente 8 mil pares de bases e que apresentam um tropismo para infectarem células escamosas, induzindo lesões produtivas ou proliferativas. Esses vírus não são classificados por sorotipos, mas sim por genótipos. Já foram identificados e genotipados 106 HPVs patogênicos. Calcula-se, ainda, que existam mais de 100 genótipos virais que possuem semelhança com essa família de vírus (de Villiers, 1997; zur Hausen, 2005).

Os genótipos do HPVs podem ser divididos em: de baixo risco, como exemplo os HPVs tipos 6, 11, 42, 43 e 44, que se associam a verrugas ou codilomas benignos na região anogenital; e os de alto risco, HPVs tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, entre outros, considerados carcinogênicos ao trato anogenital e causadores de lesões intra-epiteliais da cérvix (Delius et al, 1998; zur Hausen, 2005).

A organização molecular do genoma do HPV pode ser dividida em três domínios: genes precoces, “E1, E2, E4, E5, E6 e E7” (Early); genes tardios, “L1 e L2” (Late) e a região controladora da expressão genética e da replicação do DNA “LCR” (Long Control Region). Na etapa de integração do genoma do HPV ao DNA humano, as proteínas produzidas pelos genes E6 e E7 são essenciais para o processo de transformação celular neoplásica, sendo que o E6 está envolvido na degradação da

proteína supressora do crescimento tumoral p53 e, o E7, ao interagir com a proteína supressora de tumores pRb (retinoblastoma), acaba por inativá-la (IARC, 1995; Munger, Howley, 2002; Silva et al, 2003).

As infecções por HPV são transmitidas por contato sexual e podem resultar, inicialmente, em lesões escamosas intra-epiteliais de baixo grau. A maioria dessas lesões se resolvem entre 6 e 12 meses após o seu aparecimento, por intervenção do sistema imune; apenas uma pequena porcentagem irá desenvolver lesão escamosa intra-epitelial de alto grau seguindo para carcinoma *in situ*. A lesão de alto grau, quando não tratada adequadamente, poderá evoluir para carcinoma invasor de células escamosas, o que ocorre em menos de 1% das mulheres infectadas (zur Hausen, 2000; Syrjänen et al, 2000; Tindle, 2002).

A presença do HPV no colo é considerada necessária, mas não suficiente, para causar o câncer cervical. Já estudos com pacientes imunocomprometidas com o vírus da imunodeficiência adquirida ou que receberam transplante renal e estão em tratamento com drogas imunossupressoras, mostraram que essas mulheres, infectadas com HPV, desenvolvem neoplasia intra-epitelial cervical em frequências maiores do que as mulheres saudáveis (Halpert et al, 1986; Maiman et al, 1993; Wright et al, 1996).

De fato, avanços recentes em imunologia têm demonstrado a importância da imunidade celular nos mecanismos de defesa contra o HPV. Essa imunidade é regulada por citocinas que são produzidas por linfócitos T-helper (Th) e macrófagos. Essas células são classificadas em duas grandes classes de acordo com os padrões de citocinas que as compõem. O componente conhecido como Th-1 modula a resposta celular tipo 1 e, a Th-2, controla a resposta humoral conhecida como tipo 2 (Wu, 1994; Ling et al, 2000; Roden et al, 2004).

As células Th-1 produzem interferon-gama (IFN- γ) e interleucina-2 (IL-2), os quais são imunoestimuladores, sendo associados ao *clearance* do HPV e à regressão das lesões intra-epiteliais. As células envolvidas na resposta Th-2, produzem, por sua vez, as interleucinas-4 e -10 (IL-4 e IL-10) que têm atividade

inibitória do sistema imune, podendo, em situações especiais, favorecer o crescimento do tumor (Clerici et al, 1997).

Dentro das citocinas inflamatórias merece especial atenção a interleucina-6 (IL-6). É uma citocina pró-inflamatória que, inicialmente, recebeu o nome de fator de diferenciação das células-B (BSF2, B-cell differentiation factor). Age sobre várias células e é liberada em quase todas as situações de perturbação da homeostase, como endotoxemia, trauma e infecção aguda. Em conjunto com o TNF- α (fator de necrose tumoral-alfa) e com a interleucina-1 (IL-1), a IL-6 tem papel na resposta inflamatória aguda que inclui febre, liberação de corticóides e produção hepática de inibidores de proteases na fase aguda dos processos inflamatórios. Independentemente de seu papel no processo inflamatório, a IL-6 induz a diferenciação e o desenvolvimento de linfócitos B e T, células mielóides, megacariócitos, osteoclastos, células neurais e hepatócitos (Kishimoto et al, 1995).

A partir de 1993, comprovou-se que a mucosa cervical normal produz IL-6 e que a presença do HPV influenciaria na resposta imune local. Observou-se, ainda, que ocorriam altos níveis de expressão do gene da IL-6 em carcinoma invasivo de colo quando comparado com a cérvix normal, sugerindo que esta interleucina poderia desempenhar papel na carcinogênese cervical (Woodworth, Simpson, 1993; Pao et al, 1995; Richter et al, 1999).

De fato, estudos *in vivo* demonstraram a importância da IL-6 na patogenicidade do carcinoma cervical ao comprovarem níveis elevados dessa citocina no lavado vaginal de mulheres com este câncer, sugerindo que essa citocina promoveria a angiogênese e facilitaria, dessa forma, o surgimento dessa neoplasia (Schmauz et al, 1989; Eustace et al, 1993; Tartour et al, 1994; Castrilli et al, 1997; Tjong et al, 1999; Wei et al, 2001).

O gene humano da IL-6 está localizado no cromossomo 7p21-24 e a sua glicoproteína fosforilada contém 185 aminoácidos. A atividade transcricional desse gene parece, entre outras, estar relacionada à presença de um polimorfismo localizado na região promotora (-174 G/C). Neste caso, inicialmente acreditou-se que a presença do nucleotídeo C no lugar do G na posição -174 da região promotora resultaria na

diminuição da transcrição do gene em indivíduos normais (Bowcock et al,1993; Fishman et al, 1998).

Entretanto, outros estudos revelaram que a presença do alelo C (citosina) estava, na realidade, correlacionada com o aumento da concentração de IL-6 no plasma, enquanto o alelo G (guanina), com baixos níveis ($p=0,003$). A influência da variação genética individual estaria, dessa forma, correlacionada com a patogenicidade da doença estudada, contrariando os estudos iniciais que sugeriam o contrário (Jones et al, 2001; Basso et al, 2002).

De fato, no tocante às neoplasias intra-epiteliais cervicais, a importância da produção local de IL-6 passou a ser demonstrada em vários estudos (Bidwell et al, 2001; Srivani, Nagarajan, 2003). Entretanto, a eventual importância do polimorfismo no nucleotídeo -174 de IL-6 na determinação do risco para o desenvolvimento da neoplasia invasora ainda não foi demonstrada.

Dessa forma, no presente estudo, pretendeu-se avaliar a incidência desse polimorfismo em mulheres com câncer cervical comparando-se os resultados com aqueles obtidos em mulheres saudáveis e assim tentar identificar um possível marcador de risco para o desenvolvimento dessa neoplasia.

2. TRABALHO PUBLICADO

Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer

N.C. NOGUEIRA DE SOUZA*, S.M.F. BRENN†, F. CAMPOS†, K.J. SYRJÄNEN‡, E.C. BARACAT* & I.D.C.G. SILVA*

*Department of Gynecology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil; †Leonor Mendes de Barros Maternity-Hospital, São Paulo, Brazil; and ‡Department of Oncology, Turku University Central Hospital, Turku, Finland

Abstract. Nogueira de Souza NC, Brenna SMF, Campos F, Syrjänen KJ, Baracat EC, Silva IDCG. Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:1–5.

Recent data implicate that cytokine gene polymorphisms are important in pathogenesis of various neoplastic and nonneoplastic human diseases, and it was recently suggested that polymorphisms in interleukin (IL)-6 might increase the risk of gynecological malignancies, including cervical carcinomas. The aim of this case-control study is to compare the IL-6 polymorphisms in cervical cancer patients and healthy controls and to assess whether any of these polymorphisms would increase the risk of developing cervical cancer. The material in this case-control study consists of 56 patients with cervical carcinoma and 253 population-based control subjects, all ethnic Brazilian women. Control subjects were cancer-free women, following a negative cervical cytology and colposcopy. IL-6 genotyping was performed using a polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism. Distribution of the GG, GC, and CC genotypes in cases and controls was significantly different ($P = 0.033$). Compared with the GG genotype as reference, the adjusted odds ratio for the combined GC and CC genotypes in cancer patients was 1.90 (95% confidence interval, 1.1–3.4). These data suggest that women carrying at least one C genotype in their IL-6 promoter region (–174G→C) are at higher risk of developing cervical cancer.

KEYWORDS: cervical cancer, IL-6, polymorphisms, risk factor.

In Brazil, invasive cervical cancer is one of the most common malignancies¹. The major risk factor for cervical cancer is the infection with specific high-risk types of human papillomavirus (HPV). Although the incidence of genital HPV infections in certain subgroups is very high, most of these regress without intervention, suggesting that also other factors are important determinants of cervical cancer development².

Recently, immunologic mechanisms have attracted more attention as important control mechanisms in HPV-associated carcinogenesis. Indeed, cell-mediated immunity is important in controlling both HPV infections and HPV-associated neoplasms. Cell-mediated immunity is regulated by cytokines that are secreted primarily by T-helper (Th) cells and macrophages; these cells are classified into two distinct subsets ac-

ording to their cytokine pattern. Th-1 modulates cellular (type 1) and Th-2 humoral (type 2) immune responses³. Th-1 cells produce interferon- γ and interleukin (IL)-2 that are immunostimulatory and are associated with the clearance of HPV infection and regression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). Th-2 cells, in turn, produce IL-4 and IL-10 that are immunoinhibitory and are capable of stimulating tumor growth⁴.

IL-6, originally identified as a B-cell differentiated factor, is a multifunctional cytokine that can regulate immune and inflammatory responses, hepatic acute-phase protein synthesis, hematopoiesis, and bone metabolism⁵. Various arguments have suggested a possible role for IL-6 in the pathogenesis of cervical cancer since IL-6 is a central mediator of inflammation in female genital infections⁶ and cervical cancer frequently develops in close association with chronic inflammation owing to infection with various sexually transmitted agents⁷. Previous studies have verified that some cervical cancer cell lines may synthesize

Address correspondence and reprint request to: Ismael D. C. Guerreiro da Silva, MD, PhD, Molecular Gynecology Laboratory, Rua Pedro de Toledo 781, 4th Floor, 04039-032 São Paulo, SP, Brazil. Email: ismael.toco@epm.br

IL-6, ie, a substance capable of promoting cervical tumor cell growth by autocrine and/or paracrine mechanisms⁸⁻¹⁰. Moreover, IL-6 levels are increased in cervicovaginal secretions of patients with uterine cervical cancer, and its production is related to the severity of cervical neoplasia¹¹. Indeed, according to Wei *et al.*¹², high microenvironmental IL-6 levels promote tumor angiogenesis and therefore might facilitate the development of cervical cancer.

The human IL-6 gene is mapped to chromosome 7p21-24 with an upstream promoter containing 303 bp¹³. A common G→C polymorphism of the IL-6 promoter on position -174 has been investigated in a wide variety of diseases. Several studies have identified polymorphisms in cytokine gene regulatory regions that correlated to intraindividual variations in cytokine production^{4,14}. In addition, cytokine gene polymorphisms have been implicated in various neoplastic and nonneoplastic human pathologies including CIN⁴ and cervical cancer¹⁵. This case-control study compared the IL-6 polymorphisms in cervical cancer patients and healthy controls and assessed whether any of these polymorphisms would increase the risk of developing cervical cancer.

Materials and methods

This case-control study consisted of 56 patients with cervical carcinoma and 253 population-derived, age-matched controls, all being ethnic Brazilian women. Patients were recruited between 2002 and 2004, at the Leonor Mendes de Barros Maternity-Hospital (São Paulo, Brazil), and had a histologically confirmed cervical carcinoma. Control subjects were cancer-free women who were selected from the Gynecologic Endocrinology Section at the Federal University of São Paulo, following a negative cervical cytology and normal cervix on colposcopy. They were matched to case patients (1:4) on the basis of their age (± 5 years). This study protocol was approved by the institutional review board. At recruitment, written informed consent was obtained from each subject. The key characteristics of the women in the two series are shown in Table 1.

Polymorphism analysis

Genomic DNA from the cases was extracted from the paraffin-embedded healthy tissues obtained during hysterectomy. Genotypes were determined by polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) as described below, which was performed in a blinded manner. DNA from the control subjects was extracted from the buccal cells

Table 1. Distribution of demographic and clinical variables included in the study

Variable	Category	Group	
		Case	Control
No. of patients, <i>n</i> (%)		56 (18.1)	253 (81.9)
Age (years)	Range	23-78	41-78
	Median	50	53
	Mean (SD)	52.2 (13.4)	54.0 (6.9)
Histology, <i>n</i> (%)	CEC	56 (100.0)	
Cellular grade, <i>n</i> (%)	1	4 (7.1)	
	2	31 (55.4)	
	3	21 (37.5)	
FIGO stage, <i>n</i> (%)	IA	15 (26.8)	
	IIA	2 (3.6)	
	IIB	14 (25.0)	
	IIIA	1 (1.8)	
	IIIB	24 (42.9)	

by using a commercial kit (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK). All samples were previously checked for DNA adequacy by the amplification of the single copy gene β -globin using the following oligonucleotide primers: 5'-CAACTTCATCCAGGT-TCACC-3' (forward) and 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' (reverse). PCR conditions were an initial denaturing step at 94°C for 3 min, followed by 40 cycles of PCR at 94°C for 1 min, 55°C for 1 min, and 72°C for 1 min and final extension at 72°C for 7 min (268 bp). A negative control without template DNA was used in each run.

IL-6 genotyping was performed as described by Fishman *et al.*¹⁶ using a PCR-RFLP method with the following amplification primers: 5'-ATGCCAAGTGC-TGAGTCACTA-3' (forward) and 5'-GGAAAATCC-CACATTTGATA-3' (reverse). After initial denaturation at 94°C for 5 min, 40 cycles of PCR were performed for 30 sec at 94°C, for 45 sec at 52.8°C, and for 1 min at 72°C, with final extension at 72°C for 7 min. Then, 8 μ L of PCR product was digested with *Nla*III (New England Biolabs Inc.) for 4 h at 37°C that cleaves the 226-bp PCR product into two fragments of 117 bp and 109 bp when the -174G→C mutations exists. The digestion products were separated by electrophoresis on a 3% agarose gel (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) and visualized with ethidium bromide.

Statistical analysis

In univariate analysis, the associations of categorical data were determined using the frequency Chi-square test. The Hardy-Weinberg equilibrium analysis ($p^2 + 2pq + q^2$; with $q = 1 - p$) was performed to estimate the expected genotype distribution (wild, heterozygosis, mutant), which was compared with observed genotype frequencies using a Chi-square test. Unconditional

logistic regression with 95% confidence interval (CI) was performed to obtain the estimated odds ratios (OR). For all tests, the *P* values of 0.05 were regarded significant.

Results

The distribution of the IL-6 polymorphisms in cases and controls is shown in Table 2. Distribution of the GG, GC, and CC genotypes in cases and controls is significantly different (*P* = 0.033). When the GC and CC genotypes were combined, the adjusted OR for the GG genotype was 1.90 (95% CI, 1.1–3.4; *P* = 0.033) (Table 3), suggesting that women with at least one mutant allele are at higher risk of developing cervical cancer.

Discussion

Cytokines generated by Th-1 cells, such as IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-18, and tumor necrosis factor (TNF)- β , acting as cytokine receptor ligands, upregulate proinflammatory effects such as immune cell division, growth, differentiation, and migration¹⁷. Expressed in the presence of many infections and inflammatory reactions, Th-1 cytokines also activate prostaglandins, which in turn act on surrounding tissues to decrease cell differentiation, inhibit apoptosis, and induce angiogenesis through growth factors and matrix metalloproteases¹⁸.

The IL-6¹⁹ is produced by many different cells, including leukocytes, adipocytes, endothelial cells, fibroblasts, and myocytes. IL-6 regulates production of adhesion molecules and induces secretion of monocyte chemotactic protein, an important mediator of release of other cytokines, such as TNF- β and IL-1 β that subsequently amplify the inflammatory reaction.

IL-6 is a phosphorylated glycoprotein containing 185 amino acids, and the G \rightarrow C single-nucleotide polymorphism at position -174 in the promoter region of this gene has been identified by Fishman *et al.*¹⁶ Since then, this polymorphism has been associated with the prevalence, incidence, and/or prognosis of a variety of

disease states, such as Epstein–Barr virus-associated gastric carcinoma²⁰, Alzheimer's disease²¹, rheumatoid arthritis²², severe sepsis after trauma²³, atherosclerosis, cardiovascular disease²⁵, noninsulin-dependent diabetes mellitus²⁶, osteoporosis²⁵, and systemic-onset juvenile chronic arthritis¹⁶.

With regard to human carcinogenesis, many tumors including non-small cell lung cancer²⁷, Kaposi's sarcoma²⁸, melanoma²⁹, multiple myeloma³⁰, and prostate cancer³¹ produce IL-6 that can act as an autocrine and/or a paracrine growth factor for the neoplasm³². In fact, when human multiple myeloma cells are injected into immunodeficient *scid* mice, treatment with a humanized anti-IL-6R monoclonal antibody suppresses tumor-associated abnormalities and prolongs the life span of the tumor-bearing mice³⁰. In addition, an anti-IL-6-neutralizing antibody, a receptor antagonistic IL-6 mutant called Sant7, or an antisense oligodeoxynucleotide against gp130 can all block the effect of IL-6 on cell proliferation and enhancement of drug resistance in human prostate carcinoma PC-3 cell line³³.

Others have documented the relationship of an increased type 2 and decreased type 1 cytokine profile to a variety of tumors and demonstrated that an association of polymorphisms in IL-6 were suggested to be related to increasing risk of gynecological malignancies, including ovarian carcinoma^{33,34}.

Indeed, IL-6 levels in ascitic fluid were found to be significantly elevated in patients with ovarian cancer, and serum levels have been associated with an increased tumor burden and impaired survival³⁴. Increased risks of coronary disease and breast cancer development were also found in patients harboring polymorphisms in IL-6, with relative risks even higher than those found in our study³⁵.

Regarding cervical cancer, polymorphisms in IL-6 was demonstrated in CIN⁴ and as a prognostic indicator of cervical cancer¹⁵. It is also important to emphasize that humoral responses at vaginal levels are also important during cancer development. Indeed, the levels of mucosal immune responses, specifically

Table 2. Distribution of IL-6 polymorphisms in cases and controls

Variable	Category	Group control, <i>n</i> (%)	Group case, <i>n</i> (%)	<i>P</i> value ^a
Polymorphism gene IL-6	GG	148 (58.5)	24 (42.9)	
	GC	102 (40.3)	32 (57.1)	
	CC	3 (1.2)		
Hardy–Weinberg equilibrium				0.042
Polymorphism gene IL-6	GG	148 (58.5)	24 (42.9)	0.033
	GC + CC	105 (41.5)	32 (57.1)	

^aObtained by Chi-square test.

Table 3. Crude and adjusted OR calculated using logistic regression models

Variable	Category	OR (95% CI)	P	OR ^a (95% CI)	P
Polymorphism gene IL-6	GG	Ref	0.035	Ref	0.033
	GC + CC	1.88 (1.1–3.4)		1.90 (1.1–3.4)	

^aOR adjusted for age group (<53 years; >53 years).

immunoglobulin A, seem to be downregulated in patients with cervical tumors³⁶.

To the best of our knowledge, this is the first study to demonstrate a higher risk of cervical cancer development in women carrying at least one C genotype in their IL-6 promoter region (174G→C). Indeed, our results suggest a small but significant increased risk for cervical cancer development in such women. Our findings might be relevant from the point of view of cervical carcinogenesis since our study seems to further implicate inflammation as an important element for tumor development.

Undoubtedly, recent data have expanded the concept that inflammation is a critical component of tumor development. The notion that inflammation has a relationship to cancer started with the seminal publication by Virchow in 1863 that proposed that cancer originated at sites of chronic inflammation³⁷.

A growing body of epidemiologic and laboratory evidence has emerged, showing that long-standing inflammation promotes tumor development, growth, and progression³⁸.

The new paradigm suggests that chronic inflammation is a risk or prerequisite factor for the development of a number of human malignancies, including liver, colon, stomach, bladder, cervical, ovarian, and lung carcinomas^{37,38}.

In fact, according to Nicol *et al.*, IL-6 levels seem to be increased in HPV infection as well as interferon- γ and TNF- α . These findings further confirm our results when these authors found a marked increase in the number of a variety of inflammation modulators in HPV-induced lesions³⁹.

Nevertheless, it is essential to mention that our controls and patients were selected in the same area of São Paulo from two different hospitals, and this fact might disqualify a perfectly matched control group. In addition, the number of patients in this study is rather limited, and another case-control study based on larger series of patients and population controls will be needed to confirm these results.

References

- Brenna SMF, Zeferino LC, Pinto GA *et al.* p53 Expression as a predictor of recurrence in cervical squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:299–303.

- Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Molecular biology of papillomaviruses. In: Syrjänen KJ, Syrjänen SM, eds. *Papillomavirus infections in human pathology*. John Wiley & Sons, Ltd, 2000:11–51.
- Wu TC. Immunology of the human papillomavirus in relation to cancer. *Curr Opin Immunol* 1994;6:746–54.
- Clerici M, Merola M, Ferrario E *et al.* Cytokine production patterns in cervical intraepithelial neoplasia: an association with human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:245–50.
- Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995;86:1243–54.
- Richter HE, Holley RL, Andrews WW, Owen J, Miller KB. The association of interleukin 6 with clinical and laboratory parameters of acute pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:940–4.
- Schmauz R, Okong P, de Villiers EM *et al.* Multiple infections in cases of cervical cancer from a high incidence area in tropical Africa. *Int J Cancer* 1989;43:805–9.
- Eustace D, Han X, Gooding R, Rowbottom A, Riches P, Heyderman E. Interleukin-6 (IL-6) functions as an autocrine growth factor in cervical carcinomas in vitro. *Gynecol Oncol* 1993;50:15–9.
- Tartour E, Gey A, Sastre-Garau X *et al.* Analysis of interleukin 6 gene expression in cervical neoplasia using a quantitative polymerase chain reaction assay: evidence for enhanced interleukin 6 gene expression in invasive carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:6243–8.
- Castrilli G, Tatone D, Diodoro MG, Rosini S, Piantelli M, Musiani P. Interleukin 1 alpha and interleukin 6 promote the in vitro growth of both normal and neoplastic human cervical epithelial cells. *Br J Cancer* 1997;75:855–9.
- Tjong MY, van der Vange N, ten Kate FJ *et al.* Increased IL-6 and IL-8 levels in cervicovaginal secretions of patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1999;73:285–91.
- Wei LH, Kuo ML, Chen CA *et al.* Interleukin-6 in cervical cancer: the relationship with vascular endothelial growth factor. *Gynecol Oncol* 2001;82:49–56.
- Bowcock AM, Kidd JR, Lathrop GM *et al.* The human “interferon-beta 2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6” gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics* 1988;3:8–16.
- Bidwell J, Keen L, Gallagher G *et al.* Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes Immun* 2001;2:61–70.
- Srivani R, Nagarajan B. A prognostic insight on in vivo expression of interleukin-6 in uterine cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2003;13:331–9.
- Fishman D, Faulds G, Jeffery R *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369–76.
- Mocellin S, Wang E, Marincola FM. Cytokines and immune response in the tumor microenvironment. *J Immunother* 2001;24:392–407.
- Ness RB, Haggerty CL, Harger G, Ferrell R. Differential distribution of allelic variants in cytokine genes among African Americans and White Americans. *Am J Epidemiol* 2004;160:1033–8.
- Barton BE. The biological effects of interleukin 6. *Med Res Rev* 1996;1:87–109.
- Wu MS, Huang SP, Chang YT *et al.* Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter polymorphisms in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *J Infect Dis* 2002;185:106–9.
- Shibata N, Ohnuma T, Takahashi T *et al.* Effect of IL-6 polymorphism on risk of Alzheimer disease: genotype-phenotype association study in Japanese cases. *Am J Med Genet* 2002;114:436–9.
- Verhoef CM, Van Roon JA, Vianen ME, Glaudemans CA, Lafèber FP, Bijlsma JW. Lymphocyte stimulation by CD3-CD28 enables detection of low T cell interferon-gamma and interleukin-4 production in rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 1999;50:427–32.
- O’Keefe GE, Hybki DL, Munford RS. The G→A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor-alpha

- promoter increases the risk for severe sepsis after trauma. *J Trauma* 2002;52:817–25.
- 24 Chapman CM, Beilby JP, Humphries SE, Palmer LJ, Thompson PL, Hung J. Association of an allelic variant of interleukin-6 with sub-clinical carotid atherosclerosis in an Australian community population. *Eur Heart J* 2003;24:1494–99.
 - 25 Chung HW, Seo JS, Hur SE *et al.* Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal women. *J Hum Genet* 2003;48:243–8.
 - 26 Kubaszek A, Pihlajamaki J, Komarovski V *et al.* Promoter polymorphism of the TNF- α (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. *Diabetes* 2003;52:1872–75.
 - 27 Huang M, Wang J, Lee P *et al.* Human non-small cell lung cancer cells express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res* 1995;55:3847–53.
 - 28 Miles SA, Rezaei AR, Salazar-Gonzalez JF *et al.* AIDS Kaposi sarcoma-derived cells produce and respond to interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4068–72.
 - 29 Molnar EL, Hegyesi H, Toth S *et al.* A biosynthesis of interleukin-6, an autocrine growth factor for melanoma, is regulated by melanoma-derived histamine. *Semin Cancer Biol* 2000;10:25–8.
 - 30 Tsunenari T, Koishihara Y, Nakamura A *et al.* New xenograft model of multiple myeloma and efficacy of a humanized antibody against human interleukin-6 receptor. *Blood* 1997;90:2437–44.
 - 31 Ueda T, Bruchofsky N, Sadar MD. Activation of the androgen receptor N-terminal domain by interleukin-6 via MAPK and STAT3 signal transduction pathways. *J Biol Chem* 2002;277:7076–85.
 - 32 Kamimura DO, Ishihara KO, Hirano TO. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003;149:1–38.
 - 33 Penson RT, Kronish K, Duan Z *et al.* Cytokines IL-1 beta, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNFalpha in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer* 2000;10:33–41.
 - 34 Plante M, Rubin SC, Wong GY, Federici MG, Finstad CL, Gastl GA. Interleukin-6 level in serum and ascites as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer. *Cancer* 1994;73:1882–8.
 - 35 Hefler LA, Grimm C, Lantzsch T *et al.* Interleukin-1 and interleukin-6 gene polymorphisms and the risk of breast cancer in caucasian women. *Clin Cancer Res* 2005;11:5718–21.
 - 36 Nguyen HH, Broker TR, Chow LT *et al.* Immune responses to human papillomavirus in genital tract of women with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2005;96:452–61.
 - 37 Blackwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow. *Lancet* 2001;357:539–45.
 - 38 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860–7.
 - 39 Nicol AF, Fernandes AT, Grinsztejn B *et al.* Distribution of immune cell subsets and cytokine-producing cells in the uterine cervix of human papillomavirus (HPV)-infected women: influence of HIV-1 coinfection. *Diagn Mol Pathol* 2005;14:39–47.

Accepted for publication August 31, 2005

3. DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a analisar a frequência do polimorfismo na região promotora do gene codificador da IL-6 (-174G/C) em mulheres com câncer cervical. Nossos resultados mostraram haver um pequeno, mas, significativo aumento no risco de mulheres portadoras do genótipo heterozigoto GC apresentarem câncer de colo do útero. Após análise de regressão logística, as mulheres com idade superior a de 53 anos tiveram risco de 1,90.

As citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interferons (IFNs) e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), que são liberados durante a infecção, são mensageiros das respostas inflamatórias local e sistêmica. O aumento da sua produção marca o início da fase aguda da resposta inflamatória (Biffl et al, 1996; Mocellin et al, 2001).

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica, produzida por monócitos, macrófagos, linfócitos e fibroblastos e que estimula a produção de células B, a proliferação de células T, a ativação do mecanismo natural de morte celular e a citotoxicidade (Barton, 1996; Ness et al, 2004).

Estudos recentes têm demonstrado a importância dos polimorfismos em citocinas pró-inflamatórias em várias doenças como artrite reumatóide (Verhoef et al, 1999); câncer gástrico associado com Epstein-Barr vírus (Wu et al, 2002) e sepse pós-traumática (O'Keefe et al, 2002).

No caso específico da IL-6, a partir dos trabalhos de Fishman et al (1998), outros pesquisadores começaram a associar a incidência, a prevalência e o prognóstico de várias doenças com o polimorfismo da IL-6. Essas doenças incluem arterosclerose (Jenny et al, 2002; Chapman et al, 2003); hiperandrogenismo em mulheres com ovários policísticos (Villuendas et al, 2002); hipertensão e doença cardiovascular (Losito et al, 2003); doença de Alzheimer (Shibata et al, 2002; Licastro et al, 2003); densidade mineral óssea em mulheres pós-menopáusicas (Chung et al, 2003); diabetes tipo 2 (Kubaszek et al, 2003), além de câncer colorretal (Belluco et al, 2003).

No tocante à produção tumoral autócrina e parácrina de IL-6, esta foi comprovada em várias situações que incluem câncer de pulmão, sarcoma de Kaposi e melanoma. Nestes tumores, essa interleucina parece favorecer o crescimento tumoral (Miles et al, 1990; Huang, 1995; Foster et al, 2000; Molnar et al, 2000).

De fato, Tsunenari et al, em 1997, ao injetarem células de mieloma em camundongos imunodeficientes e tratá-los com anticorpo monoclonal contra o receptor de IL-6 (anti-IL-6R α), observaram a supressão do crescimento tumoral e o aumento da sobrevivência do camundongo. Já em 2002, Ueda et al, mostraram que anticorpos neutralizadores de IL-6 ou o desenvolvimento de abordagens do tipo antisense contra o RNA mensageiro de IL-6, podem afetar a proliferação celular induzida por IL-6 em carcinoma de próstata (Kamimura et al, 2003).

Do ponto de vista dos tumores ginecológicos, outros trabalhos relataram que o desequilíbrio entre os sistemas Th1 e Th2 parece aumentar o risco do aparecimento de carcinoma ovariano e de mama, sendo que o polimorfismo da região promotora de IL-6 parece, inclusive, influenciar a agressividade e o prognóstico dessas neoplasias (Plante et al, 1994; Penson et al, 2002; Hefler et al, 2003; De Michele et al, 2003; Nicol et al, 2005).

No mundo, cerca de 15% das causas de câncer são atribuídas a agentes infecciosos, sendo a resposta inflamatória do hospedeiro considerada o maior componente de combate frente à infecção crônica. Entretanto, o processo inflamatório propriamente dito pode ter papel dúbio na resposta contra o câncer (Balkwill, Mantovani, 2001; Coussens, Werb, 2002).

De fato, o aumento de citocinas inflamatórias no microambiente tumoral poderia ser responsável por inúmeros eventos que, ao contrário do esperado, favorecem o crescimento tumoral. No microambiente tumoral, a elevação de citocinas poderia condicionar o aumento nas taxas de mutação, bem como déficit no reparo de DNA em consequência do incremento de radicais livres. São descritos, também, aumento nas taxas de angiogênese, além de favorecimento da migração celular tumoral e aumento das concentrações de metaloproteases (Balkwill, Mantovani, 2001; Coussens, Werb, 2002).

Dessa forma, tendo em vista nossos resultados, acreditamos que a presença de citocinas inflamatórias por um longo período de tempo possa desempenhar papel na carcinogênese cervical. Essa teoria vem de encontro ao fato de que os polimorfismos em geral, constituem variações genéticas de baixa penetrância, necessitando, dessa forma, de um longo período de tempo para que ocorra a instalação de um determinado quadro patológico.

É conveniente, nesse momento, ressaltar as limitações do nosso trabalho. Em primeiro lugar salientamos o pequeno número de mulheres no grupo de estudo, isso se deveu ao fato de não termos conseguido obter DNA de boa qualidade na maioria dos 169 casos inicialmente incluídos. Procuramos minimizar essa limitação com a inclusão de um grupo controle quatro vezes maior.

Uma outra limitação diz respeito ao fato de não termos realizado a avaliação das concentrações locais ou sistêmicas de IL-6, o que poderia ser útil para a importância desse polimorfismo. Não obstante, acreditamos que a literatura possui resultados convincentes o suficiente para que dispensássemos essa etapa, apesar de considerarmos essa possibilidade em estudos futuros em nosso laboratório.

Finalmente, tendo em vista os nossos resultados, em especial quando associados àqueles obtidos por outros pesquisadores, acreditamos ter encontrado um novo marcador de risco para o câncer cérvico-uterino a ser pesquisado em casuísticas maiores e de forma prospectiva.

4. CONCLUSÃO

Baseados em nossos resultados, podemos concluir que as mulheres que apresentam o genótipo GC têm risco aumentado de 1,90, ajustado para idade, para desenvolverem câncer de colo do útero.

5. ANEXOS

Anexo 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DA SAÚDE DE REGIÕES METROPOLITANAS DA GRANDE SÃO PAULO
UNIDADE DE GESTÃO ASSISTENCIAL IV - U.G.A. IV
HOSPITAL MATERNIDADE LEONOR MENDES DE BARROS
Av. Celso Garcia, 2477 Belenzinho São Paulo
tel: 6292-4188 fax: 6094-4625

São Paulo, 20 de abril de 2.004.

Para
Sylvia Michelina Fernandes Brenna

Ref. Protocolo CEP 049/04

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa do H.M.L.M.B., vem pela presente informar que a pesquisa **“Análise de Polimorfismos na região de IL-10, E-IL-6 e sua correlação com a sobre vida de pacientes portadoras de carcinoma do colo de útero, no Brasil.”**, foram aprovados, atendendo a Resolução 196/96.

Salientamos que a responsabilidade ética junto ao Órgão de Classe é atribuída ao pesquisador. O Consentimento Livre e Esclarecido, após assinado pelo sujeito pesquisado deverá permanecer arquivado por um período de 5 anos.

Este Comitê sente-se no direito de interromper o estudo científico, caso os princípios éticos não venham a ser cumpridos. O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais das atividades ao Comitê.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Márcia M. Auxiliadora de Aquino
Coordenadora
CEP-HMLMB

Anexo 2 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 4 de junho de 2004.
CEP 0510/04

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) NAIARA CORRÊA NOGUEIRA DE SOUZA
Disciplina/Departamento: Ginecologia da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Análise de polimorfismos na região promotora de IL-6 e IL-10 e sua correlação com a sobrevida de pacientes portadoras de carcinoma cervical uterino"**.

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa acima referenciado.

Conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde são deveres do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. Apresentar primeiro relatório parcial em **01/dezembro/2004**.
5. Apresentar segundo relatório parcial em **30/maio/2005**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

"Ressaltamos que é de essencial importância que seja verificado, antes da divulgação dos processos e/ou resultados obtidos nesta pesquisa, se os mesmos são potencialmente patenteáveis ou passíveis de outras formas de proteção intelectual/industrial. A proteção por meio do depósito de patente, ou de outras formas de proteção da propriedade intelectual, evita a ação indevida de terceiros e confere maior segurança quando da publicação dos resultados da pesquisa."

Anexo 3 – Email enviado pela International Journal of Gynecological Cancer.

11-Jan-2006

IJGC-2005-00276+.R1*B - IL-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer

Dear Dr. Silva:

Congratulations! Your manuscript that has been selected by our Editor-In-Chief to be published in the International Journal of Gynecological Cancer 16:3 issue (May/June 2006). I have previously received your copyright authorization form. Your files will now be forwarded to the publisher for press. You will be receiving proofs via email from the publisher in about ten weeks. If you have any questions please feel free to contact me.

Sincerely,

Kim Williamson

Managing Editor International Journal of Gynecological Cancer

ijgc@mdanderson.org

Anexo 4 – Trabalhos publicados durante o Doutorado.

Linhares JJ, Da Silva ID, **Nogueira de Souza NC**, Noronha EC, Ferraro O, De Carvalho CV, Baracat EC, Baracat FF. Genetic polymorphism of GSTM1 in women with breast cancer and interact with reproductive history and several clinical pathologies. Biol Res. 2005;38(2-3):273-81.

Biol Res. 2005;38(2-3):273-81.

Genetic polymorphism of GSTM1 in women with breast cancer and interact with reproductive history and several clinical pathologies.

Linhares JJ, Da Silva ID, De Souza NC, Noronha EC, Ferraro O, De Carvalho CV, Baracat EC, Baracat FF.

Division of Obstetrics and Gynecology, Hospital do Servidor Publico Estadual Sao Paulo, Brazil. juvenallinhares@superig.com.br

Due to the conflicting results regarding the association between breast cancer and the GSTM1 null mutation, our aim was to research this association in a Brazilian population and correlations with smoking, reproductive history and several clinical pathologies. A case-control study was performed on 105 women with breast cancer and 278 controls. Extraction of DNA was accomplished according to the protocol of the GFX kit and polymorphism analysis by the PCR technique. The control and experimental groups were compared and statistical analysis assessed by X2 or Fisher's exact test. The deletion in the GSTM1 gene in the breast cancer group had a prevalence of 32 (30.4%) individuals with the presence of null mutation. In the control group, the null mutation was present in 104 (37.4%) women. Upon comparison of the two groups, no statistically significant difference of the GSTM1 gene was observed, with an odds ratio (OR) of 0.74, 95% confidence interval (CI) 0.45 - 1.20, $p = 0.277$. The results conclusively show that single gene GSTM1 polymorphisms do not confer a substantial risk of breast cancer to its carriers. Furthermore, in this study no correlation was found between GSTs and smoking, reproductive history and several clinical pathologies with respect to cancer risk.

PMID: 16238106 [PubMed - in process]

Linhares JJ, Da Silva ID, **Nogueira de Souza NC**, Noronha EC, Ferraro O, De Carvalho CV, Baracat FF. Polimorfismo do gene do receptor de progesterona (PROGINS) em mulheres com câncer de mama. Estudo caso-controle. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. vol.27 n.8 Rio de Janeiro Aug. 2005

LINHARES, José Juvenal, SILVA, Ismael Dale Cotrim Guerreiro da, SOUZA, Naiara Correa Nogueira de et al. Polimorfismo do gene do receptor de progesterona (PROGINS) em mulheres. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., Aug. 2005, vol.27, no.8, p.473-478. ISSN 0100-7203.

OBJETIVOS: analisar a correlação entre o polimorfismo PROGINS e o câncer de mama. **MÉTODOS:** estudo caso-controle desenvolvido entre abril e outubro de 2004 com o pareamento de 50 mulheres com diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama e 49 mulheres saudáveis. A inserção Alu de 306 pares de base no intron G do gene do receptor da progesterona denominada PROGINS foi detectada por meio de reação em cadeia da polimerase e analisada em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio. Os grupos controle e experimental foram comparados, por meio de programa estatístico Epi-Info 6.0, quanto aos genótipos e às frequências alélicas, utilizando-se o teste do χ^2 . **RESULTADOS:** em relação ao PROGINS encontramos uma prevalência na população estudada de 62 (62,6%) indivíduos homozigotos selvagens, 35 (35,3%) de heterozigotos e dois (2,1%) casos com a presença da mutação. Não foi evidenciada diferença significativa em relação ao polimorfismo PROGINS, quando comparados os casos e controles, seja com relação à homozigose (62 vs 65,3%), heterozigose (36 vs 34,6%) ou à presença de mutação (2,0 vs 2,1%), com p de 0,920 (OR=1,01), 0,891 (OR=1,06) e 0,988 (OR=1,10), respectivamente. **CONCLUSÕES:** os resultados mostraram que o polimorfismo PROGINS não conferiu risco substancial de câncer de mama em seus portadores.

Keywords: Neoplasias mamárias; Polimorfismo [Genética]; Receptores de progesterona.

Silva IDCG, **Nogueira de Souza NC**. Biologia Celular e Molecular - Reação em Cadeia da Polimerase, Hibridização in Situ. In: Martins NV; Ribalta JCL. Patologia do trato genital inferior. Roca LTDA, São Paulo. 2005 p.587-602

Ramos EHM; Chambo D; **Nogueira de Souza NC**; Silva IDCG; Kemp C. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and mammographic density in postmenopausal women without hormonal therapy. In: 28th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. December 8-11, San Antonio 2005.

Pereira RV; Zucchi F; **Nogueira de Souza NC**; Brenna SMF; Ribalta JCL; Silva IDCG. Polimorfismo do Gene FAS Aumenta o Risco de Câncer de Colo do Útero. In: 51ºCongresso Brasileiro de Ginecologia e Obstetrícia, 2005, Rio de Janeiro, 2005.

Pereira RV; **Nogueira de Souza NC**; Brenna SMF; Silva IDCG. Polimorfismo do Gene IL-6 e Risco de Carcinogênese de Colo do Útero. In: 51ºCongresso Brasileiro de Ginecologia e Obstetrícia, 2005, Rio de Janeiro, 2005.

Moura KFQ; Gimenez C; Haidar MA; **Nogueira de Souza NC**; Baracat EC; Silva IDCG. Interleukin 6 (IL-6) polymorphism correlates with bone loss in menopause women. In: 15th Annual Meeting The North American Menopause Society - NAMS, 2004, Washington, D.C. Program and Abstract Book, 2004. p. 107.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357:539-45.

Barton BE. The biological effects of interleukin 6. *Med Res Rev.* 1996 Jan;16(1): 87-109.

Basso F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE. Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Apr 1; 22(4):599-604.

Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 1. *Genes Immun.* 2001 Apr; 2(2):61-70.

Biffl WL, Moore EE, Moore FA, Peterson VM. Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation? *Ann Surg.* 1996 Nov; 224(5):647-64.

Bowcock AM; Kidd JR; Lathrop GM; Daneshvar L; May LT; Ray A; Sehgal PB; Kidd KK.; Cavalli-Sforza LL. The human interferon-beta-2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6' gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics* 1988; 3:8-16.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2005.

Belluco C, Olivieri F, Bonafe M, Giovagnetti S, Mammano E, Scalerta R, Ambrosi A, Franceschi C, Nitti D, Lise M. -174 G>C Polymorphism of Interleukin 6 Gene Promoter Affects Interleukin 6 Serum Level in Patients with Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research* 2003; 9:2173–2176.

Castrilli G, Tatone D, Diodoro MG, Rosini S, Piantelli M, Musiani P: Interleukin 1-alpha and interleukin 6 promote the in vitro growth of both normal and neoplastic human cervical epithelial cells. *Br J Cancer* 1997; 75: 855–859.

Chapman CM, Beilby JP, Humphries SE, Palmer LJ, Thompson PL, Hung J. Association of an allelic variant of interleukin-6 with subclinical carotid atherosclerosis in an Australian community population. *Eur Heart J.* 2003; Aug;24(16):1494-9.

Chung HW, Seo JS, Hur SE, Kim HL, Kim JY, Jung JH, Kim LH, Park BL, Shin HD. Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in premenopausal women. *J Hum Genet.* 2003; 48(5):243-8.

Clerici M, Merola M, Ferrario E, Trabattoni D, Villa ML, Stefanon B, Venzon DJ, Shearer GM, De Palo G, Clerici E. Cytokine production patterns in cervical intraepithelial neoplasia: association with human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst.* 1997; Feb 5; 89(3):245-50.

Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420:860-7.

de Michele A, Martin AM, Mick R, Gor P, Wray L, Klein-Cabral M, Athanasiadis G, Colligan T, Stadtmauer E, Weber B. Interleukin-6 -174G→C polymorphism is associated with improved outcome in high-risk breast cancer. *Cancer Research* 2003; 63:8051–8056.

de Villiers EM. Papillomavirus and HPV typing. *Clin. Dermatol* 1997; 15:199–206.

Dedoussis GV., Manios Y, Choumerianou DM, Yiannakouris N, Panagiotakos DB, Skenderi K, Zampelas A. The IL-6 gene G-174C polymorphism related to health indices in Greek primary school children. *Obes Res.* 2004; 12:1037–1041.

Delius H, Saegling B, Bergmann K, Shamanin V, de Villiers EM. The genomes of three of four novel HPV types, defined by differences of their L1 genes, show high conservation of the E7 gene and the URR. *Virology* 1998 Jan 20; 240(2):359-65.

Eustace D, Han X, Gooding R, Rowbottom A, Riches P, Heyderman E. Interleukin-6 (IL-6) functions as an autocrine growth factor in cervical carcinomas in vitro. *Gynecol Oncol.* 1993 Jul; 50(1):15-9.

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998 Oct 1; 102(7):1369-76.

Foster CB, Lehrnbecher T, Samuels S, Stein S, Mol F, Metcalf JÁ, Wyvill K, Steinberg SM, Kovacs J, Blauvelt A, Yarchoan R, Chanock SJ. An IL6 promoter polymorphism is associated with a lifetime risk of development of Kaposi sarcoma in men infected with human immunodeficiency virus. *Blood.* 2000; 96:2562-2567.

Halpert R, Fruchter RG, Sedlis A, Butt K, Boyce JG, Sillman FH: Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. *Obstet Gynecol* 1986; 68:251–258.

Hefler LA, Grimm C, Ackermann S, Malur S, Radjabi-Rahat AR, Leodolter S, Beckmann MW, Zeillinger R, Koelbl H, Tempfer CB. An interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the biological phenotype of ovarian cancer. *Cancer Research* 2003; 63:3066–3068.

Huang M, Wang J, Lee P, Sharma S, Mao JT, Meissner H, Uyemura K, Modlin R, Wollman J, Dubinett SM. Human non-small cell lung cancer cells express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res.* 1995 Sep 1; 55(17):3847-53.

Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A, Hurme M. Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjögren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology* 2001; 40:656–661.

IARC Working Group, Human papillomaviruses, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 64, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1995.

Jenny NS, Tracy RP, Ogg MS, Luong LA, Kuller LH, Arnold AM, Sharrett AR, Humphries SE. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G/C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:2066-2071.

Jones KG, Brull DJ, Brown LC, Sian M, Greenhalgh RM, Humphries SE, Powell JT. Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation.* 2001 May 8; 103(18):2260-5.

Kamimura D, Ishihara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2003; 149:1-38.

Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995 Aug 15; 86(4):1243-54.

Kubaszek A, Pihlajamaki J, Komarovski V, Lindi V, Lindstrom J, Eriksson J, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M; Finnish Diabetes Prevention Study. Promoter polymorphisms of the TNF-alpha (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes.* 2003 Jul; 52(7):1872-6.

Licastro F, Grimaldi LME, Bonafè M, Martina C, Olivieri F, Cavallone L, Giovanietti S, Masliah E, Franceschi C. Interleukin-6 gene alleles affect the risk of Alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain. *Neurobiology of Aging.* 2003; 24(7):921-926.

Ling M, Kanayama M, Roden R, Wu TC. Preventive and therapeutic vaccines for human papillomavirus-associated cervical cancers. *J Biomed Sci.* 2000 Sep-Oct; 7(5):341-56.

Losito A, Kalidas K, Santoni S, Jeffery S. Association of interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *Kidney Int.* 2003 Aug; 64(2):616-22.

Maiman M, Fruchter RG, Guy L, Cuthill S, Levine P, Serur E: Human immunodeficiency virus infection and invasive cervical carcinoma. *Cancer* 1993; 71:402- 406.

Miles SA, Rezai AR, Salazar-Gonzalez JF, Vander Meyden M, Stevens RH, Logan DM, Mitsuyasu RT, Taga T, Hirano T, Kishimoto T, Martinez-Maza O. AIDS Kaposi sarcoma-derived cells produce and respond to interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Jun; 87(11):4068-72.

Mocellin S, Wang E, Marincola FM. Cytokines and immune response in the tumor microenvironment. *J Immunother.* 2001 Sep-Oct; 24(5):392-407.

Molnar EL, Hegyesi H, Toth S, Darvas Z, Laszlo V, Szalai C, Falus A. Biosynthesis of interleukin-6, an autocrine growth factor for melanoma, is regulated by melanoma-derived histamine. *Semin Cancer Biol.* 2000 Feb; 10(1):25-8.

Munger K, Howley P. Human papillomavirus immortalization and transformation functions, *Virus Res.* 2002; 89: 213–228.

Ness RB, Haggerty CL, Harger G, Ferrell R. Differential distribution of allelic variants in cytokine genes among African Americans and White Americans. *Am J Epidemiol.* 2004 Dec 1; 160(11):1033-8.

Nicol AF, Fernandes AT, Grinsztejn B, Russomano F, E Silva JR, Tristao A, Perez Mde A, Nuovo GJ, Martinez-Maza O, Bonecini-Almeida Mda G. Distribution of immune cell subsets and cytokine-producing cells in the uterine cervix of human papillomavirus (HPV)-infected women: influence of HIV-1 coinfection. *Diagn Mol Pathol.* 2005 Mar; 14(1):39-47.

O'Keefe GE, Hybki DL, Munford RS. The G/A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor- α promoter increases the risk for severe sepsis after trauma. *J Trauma.* 2002 May; 52(5):817-25.

Roden RB, Ling M, Wu TC. Vaccination to prevent and treat cervical cancer. *Hum Pathol.* 2004 Aug; 35(8):971-82.

Pao CC, Lin CY, Yao DS, Tseng CJ: Differential expression of cytokine genes in cervical cancer tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995; 214: 1146–1151.

Penson RT, Kronish K, Duan Z, Feller AJ, Stark P, Cook SE, Duska LR, Fuller AF, Goodman AK, Nikrui N, MacNeill KM, Matulonis UA, Preffer FI, Seiden MV. Cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNF α in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel. *Int J Gynecol Cancer.* 2000 Jan; 10(1):33-41.

Plante M, Rubin SC, Wong GY, Federici MG, Finstad CL, Gastl GA. Interleukin-6 level in serum and ascites as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer. *Cancer.* 1994 Apr 1; 73(7):1882-8.

Richter HE, Holley RL, Andrews WW, Owen J, Miller KB. The association of interleukin 6 with clinical and laboratory parameters of acute pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Oct; 181(4):940-4.

Schmauz R, Okong P, de Villiers EM, Dennin R, Brade L, Lwanga SK, Owor R. Multiple infections in cases of cervical cancer from a high-incidence area in tropical Africa. *Int J Cancer.* 1989 May 15; 43(5):805-9.

Shibata N, Ohnuma T, Takahashi T, Baba H, Ishizuka T, Ohtsuka M, Ueki A, Nagao M, Arai H. Effect of IL-6 polymorphism on risk of Alzheimer disease: genotype-phenotype association study in Japanese cases. *Am J Med Genet.* 2002; May 8; 114(4):436-9.

Silva IDCG, Focchi J, Ribalta JCL. Papilomavírus humano e o câncer de colo uterino. In: Lima GR, Girão MJBC, Baracat EC. Ginecologia de Consultório. São Paulo: EPM – Editora de Projetos Médicos. 2003; pg: 211-218.

Srivani R, Nagarajan B. A prognostic insight on in vivo expression of interleukin-6 in uterine cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2003 May-Jun; 13(3):331-9.

Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Molecular Biology. In: Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Papillomavirus infections in human pathology. 2000; p: 11-51 - Chichester; New York: Wiley.

Tartour E, Gey A, Sastre-Garau X, Pannetier C, Mosseri V, Kourilsky P, Fridman WH: Analysis of interleukin 6 gene expression in cervical neoplasia using a quantitative polymerase chain reaction assay: evidence for enhanced interleukin 6 gene expression in invasive carcinoma. *Cancer Res*. 1994; 54:6243– 6248.

Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus – associated cervical cancer. *Nature reviews cancer*. 2002; 2: 1-7.

Tjong MY, van der Vange N, ten Kate FJ, Tjong-A-Hung SP, ter Schegget J, Burger MP, Out TA. Increased IL-6 and IL-8 levels in cervicovaginal secretions of patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 1999 May; 73(2):285-91.

Tsunenari T, Koishihara Y, Nakamura A, Moriya M, Ohkawa H, Goto H, Shimazaki C, Nakagawa M, Ohsugi Y, Kishimoto T, Akamatsu K. New xenograft model of multiple myeloma and efficacy of a humanized antibody against human interleukin-6 receptor. *Blood*. 1997 Sep 15; 90(6):2437-44.

Ueda T, Bruchoovsky N, Sadar MD. Activation of the androgen receptor N-terminal domain by interleukin-6 via MAPK and STAT3 signal transduction pathways. *J Biol Chem*. 2002 Mar 1; 277(9):7076-85.

Unfried G, Böcskör S, Endler G, Nagele F, Huber JC, Tempfer CB. A polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and idiopathic recurrent miscarriage. *Human Reproduction* 2003; 18(2):267-270.

Verhoef CM, Van Roon JA, Vianen ME, Glaudemans CA, Lafeber FP, Bijlsma JW. Lymphocyte stimulation by CD3-CD28 enables detection of low T cell interferon-gamma and interleukin-4 production in rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol*. 1999 Oct; 50(4):427-32.

Villuendas G, San Millán JL, Sancho J, Escobar-Morreale HF. The –597 G/A and –174 G/C Polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:1134–1141.

Wei LH, Kuo ML, Chen CA, Cheng WF, Cheng SP, Hsieh FJ, Hsieh CY. Interleukin-6 in cervical cancer: the relationship with vascular endothelial growth factor. *Gynecol Oncol*. 2001 Jul; 82(1):49-56.

Wieser F, Fabjani G, Tempfer C, Schneeberger C, Sator M, Huber J, Wenzl R. Analysis of an interleukin-6 gene promoter polymorphism in women with endometriosis by pyrosequencing. *J Soc Gynecol Investig.* 2003 Jan; 10(1):32-6.

Wright TC Jr, Sun XW: Anogenital papillomavirus infection and neoplasia in immunodeficient women. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1996; 23:861–893.

Woodworth CD, Simpson S: Comparative lymphokine secretion by cultured normal human cervical keratinocytes, papillomavirus-immortalized, and carcinoma cell lines. *Am J Pathol.* 1993; 142:1544 –1555.

World Health Organization. Report of the consultation on human papillomavirus vaccines. Geneva, World Health Organization, April 2005. Acesso: http://www.who.int/vaccine_research/documents/816%20%20HPV%20meeting.pdf em 03/03/2006.

Wu MS, Huang SP, Chang YT, Shun CT, Chang MC, Lin MT, Wang HP, Lin JT. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter polymorphisms in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *J Infect Dis.* 2002 Jan 1; 185(1):106-9.

Wu TC. Immunology of the human papilloma virus in relation to cancer. *Curr Opin Immunol.* 1994 Oct; 6(5):746-54.

zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host cell control in early events in carcinogenesis. *J. Natl Cancer Inst.* 2000; 92:690-698.

zur Hausen H. The causative role of HPV in anogenital and other cancers. In: World Health Organization. Report of the consultation on human papillomavirus vaccines. Geneva, World Health Organization, April 2005. Acesso: http://www.who.int/vaccine_research/documents/816%20%20HPV%20meeting.pdf em 03/03/2006.

7. ABSTRACT

Recent data implicate that cytokine gene polymorphisms are important in pathogenesis of various neoplastic and nonneoplastic human diseases, and it was recently suggested that polymorphisms in interleukin (IL)-6 might increase the risk of gynecological malignancies, including cervical carcinomas. The aim of this case-control study is to compare the IL-6 polymorphisms in cervical cancer patients and healthy controls and to assess whether any of these polymorphisms would increase the risk of developing cervical cancer. The material in this case-control study consists of 56 patients with cervical carcinoma and 253 population based control subjects, all ethnic Brazilian women. Control subjects were cancer-free women, following a negative cervical cytology and colposcopy. IL-6 genotyping was performed using a polymerase chain reaction–based restriction fragment length polymorphism. Distribution of the GG, GC, and CC genotypes in cases and controls was significantly different ($P=0.033$). Compared with the GG genotype as reference, the adjusted odds ratio for the combined GC and CC genotypes in cancer patients was 1.90 (95% confidence interval, 1.1–3.4). These data suggest that women carrying at least one C genotype in their IL-6 promoter region (–174G/C) are at higher risk of developing cervical cancer.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)