

# Análise in silico dos efeitos funcionais e estruturais de polimorfismos no gene *SOD1*: Implicações no Câncer de Tireoide

**Palavras-Chave:** POLIMORFISMO GENÉTICO, ESTRESSE OXIDATIVO, CÂNCER DE TIREOIDE

**Autores(as):**

**Marina Viana Alves, Faculdade de Medicina - PUCCAMP**  
**Me. Elisângela de Souza Teixeira, FCM-UNICAMP**  
**Me. Larissa Teodoro Rabi, FCM-UNICAMP**  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laura Sterian Ward (orientadora), FCM-UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO:

O câncer de tireoide (CT) é considerado a neoplasia endócrina mais comum e sua incidência tem aumentado cerca de 300% mundialmente (1). De fato, alguns dos fatores envolvidos em tal aumento estão relacionados ao desenvolvimento dos métodos diagnósticos e ao aumento da longevidade da população. Contudo, além de tais fatores, não se pode descartar a relevância de influências biológicas na gênese da neoplasia de tireoide (1, 2), de modo que o estresse oxidativo é um importante mecanismo envolvido na carcinogênese tireoidiana (3).

O estresse oxidativo (OS) ocorre quando há uma alteração no equilíbrio do balanço redox, o que resulta na oxidação de elementos celulares e, por conseguinte, danos celulares (3). Tal fenômeno está fortemente associado à função mitocondrial, visto que as mitocôndrias apresentam um papel crucial no metabolismo oxidativo, uma vez que são responsáveis pela produção energética, regulação da sinalização da apoptose e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), desempenhando um papel fundamental na formação de tumores (4, 5). Dentre os genes relacionados ao controle do estresse oxidativo, é importante citar os genes Superóxido Dismutase 1 (*SOD1*) que produz enzimas que eliminam ânions superóxido e protegem as células contra danos oxidativos.

As várias isoformas das enzimas superóxido dismutase promovem a transformação do radical superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) por meio de reações alternadas de redução e reoxidação. Ela converte o radical superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, protegendo assim as células contra os danos oxidativos (6).

O gene *SOD1* codifica a enzima Superóxido Dismutase Cu-Zn (*SOD1*), que transforma o radical superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (7). Uma redução da atividade de *SOD1* pode estar relacionada a um aumento nos danos oxidativos, como a peroxidação lipídica, a quebra do DNA e a carbonilação de proteínas, de forma que uma das causas da redução do seu funcionamento pode ser

atribuída a polimorfismos prejudiciais nos genes *SOD1*, pois tais variações genéticas podem comprometer a funcionalidade da proteína (7, 8).

Os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) em *SOD1*, têm sido associados a diversas doenças, no entanto, há escassez de informações acerca da sua função no câncer de tireoide. Assim, investigar esses polimorfismos e seu possível impacto na carcinogênese tireoidiana é crucial para entender melhor os fatores genéticos envolvidos nessa condição.

Com os avanços tecnológicos, as ferramentas de bioinformática tornaram-se essenciais para a análise de dados biológicos complexos, como sequências genômicas, proteômicas e metabólicas. Entre essas ferramentas, a análise *in silico* se destaca por utilizar recursos computacionais para estudar variações genéticas, prever efeitos de polimorfismos, interações proteicas e a patogenicidade dos SNPs. Dessa forma, a análise *in silico* é uma aliada crucial na compreensão dos efeitos morfofuncionais dos polimorfismos associados ao estresse oxidativo e seu potencial para serem marcadores biológicos no câncer de tireoide.

## **METODOLOGIA:**

Os polimorfismos missense de *SOD1* foram obtidos a partir do banco de dados dbSNP do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) e organizados em um arquivo Excel®, utilizado para registrar os resultados das análises subsequentes. A sequência FASTA das proteínas foi identificada no servidor UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

As análises iniciais foram realizadas na plataforma SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg>), que prevê alterações na função proteica causadas por mudanças na sequência de aminoácidos (9). Somente os polimorfismos deletérios foram submetidos a análises adicionais. Diversas ferramentas foram utilizadas para avaliar o impacto dos polimorfismos na função, patogenicidade e estabilidade das proteínas, incluindo PolyPhen-2.0, SNPs&GO, PMUT, PhD-SNP, PANTHER, SNAP-2, I-Mutant2.0, MuPro, HOPE e ConSurf. Essas ferramentas analisam os efeitos das trocas de aminoácidos na função, patogenicidade e estabilidade das proteínas humanas (10).

O servidor ConSurf (<http://consurf.tau.ac.il>) foi utilizado para analisar o padrão evolutivo das proteínas e identificar regiões estruturalmente e funcionalmente relevantes (11). O relatório HOPE (<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope/>) avaliou os efeitos estruturais e funcionais das mutações na sequência de aminoácidos da proteína (12).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

Um total de 223 nsSNPs para o gene *SOD1* foram recuperados do banco de dados. Desses, apenas 16 variantes, representando 7,2%, foram classificadas como deletérias pela ferramenta SIFT. Essas variantes deletérias de *SOD1* foram selecionadas para análises morfofuncionais com um conjunto abrangente de ferramentas.

Em termos de efeitos funcionais, 15 variantes de SOD1 foram consideradas 100% deletérias pelas ferramentas PolyPhen-2, SNAP2 e PANTHER. No que diz respeito à patogenicidade, todas as 16 variantes foram associadas ao desenvolvimento de doenças nas análises realizadas com SNPs&GO, PMUT e PhD-SNP.

Nas análises de estabilidade proteica realizadas com I-Mutant e MUpro, observou-se tanto aumento quanto redução na estabilidade, indicando que essas variações podem impactar o funcionamento das proteínas.

Além disso, as implicações estruturais das mutações e a probabilidade de serem patogênicas foram analisadas usando a ferramenta HOPE. Os resultados mostraram que oito variantes de SOD1 (G42S, G42D, G86R, G94C, L88V, I95T, F27C e H81R) apresentaram pontuações MetaRNN superiores a 0,99, indicando alta patogenicidade. As substituições de aminoácidos nessas regiões alteraram a hidrofobicidade, modificaram o tamanho do aminoácido e possivelmente impactaram as interações com outros ligantes.

**Tabela 1:** Previsão dos efeitos funcionais dos nsSNPs utilizando as plataformas PolyPhen-2, SNAP2, PANTHER, SNPs&GO, PMUT, phdD-SNP, I-Mutant, MUpro e HOPE

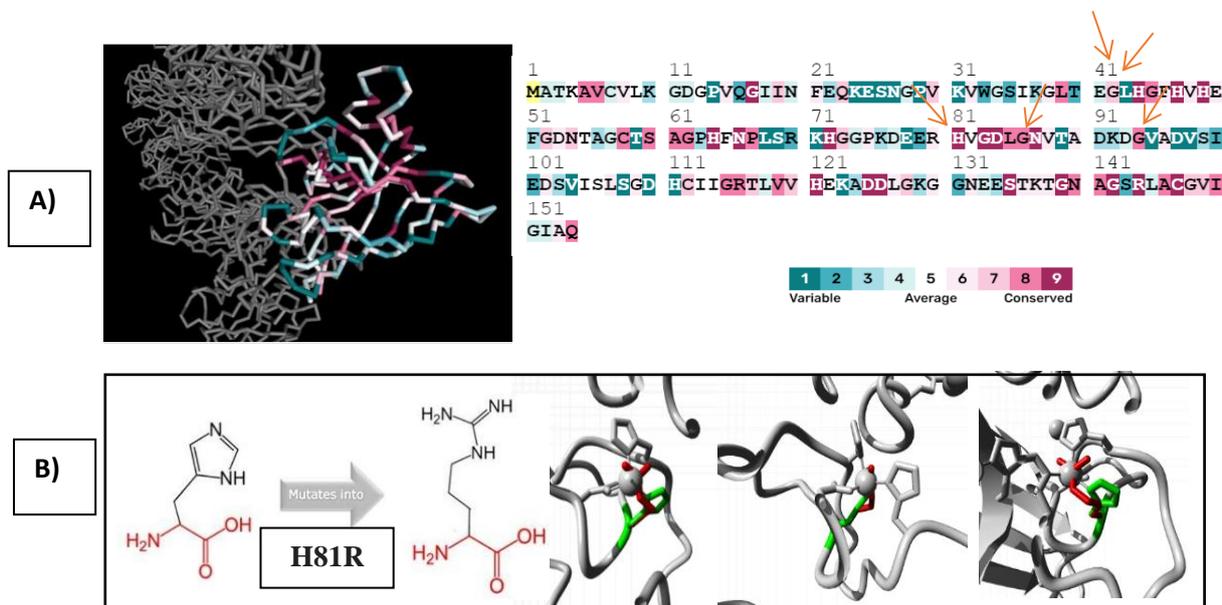
S. No	AA	rsID	PolyPhen-2		I-Mutant	MUpro	HOPE
			SNAP2	PANTHER			
1	<i>H81R</i>	rs121912458	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
2	<i>G42S</i>	rs121912433	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
3	<i>G42D</i>	rs121912434	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
4	<i>G86R</i>	rs121912436	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
5	<i>G94C</i>	rs121912437	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
6	<i>L88V</i>	rs121912440	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
7	<i>I95T</i>	rs121912441	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99
8	<i>F27C</i>	rs121912457	Damaging	Damaging	Decrease	Decrease	> 0.99

AA= Troca de aminoácido

Além disso, também foi explorada a região de conservação dessas variantes utilizando o ConSurf, e dessas, 5 variantes (G42S, G42D, G86R, G94C e H81R) estão em regiões conservadas na proteína SOD1 (PDB 4B3E), essas alterações em regiões conservadas são mais propensas a impactar a função proteica, o que pode contribuir para o desenvolvimento ou progressão de doenças (figura 1A).

Entre todas as variantes analisadas no gene SOD1, a variante rs121912458 (H81R) está localizada em uma região altamente conservada, com um escore ConSurf de 9. A substituição do aminoácido histidina (H) por arginina (R) na posição 81 introduz uma carga positiva próxima a um metal

"Zinco", resultando em repulsão e desestabilização do domínio. Além disso, a alteração no tamanho do aminoácido pode impactar a interação com outras regiões da proteína e influenciar sua função. (Figura 1B). A proximidade da mutação com uma posição altamente conservada reforça sua importância para a estrutura e função da proteína.



**Figura 1: A)** Resultado da análise de conservação do ConSurf para os resíduos da proteína SOD1. As áreas menos conservadas são exibidas em verde, enquanto as regiões mais conservadas estão marcadas em vermelho. A intensidade das cores reflete o nível de conservação. **B)** Representação 3D da substituição do aminoácido H81R, mostrando a diferença no tamanho do aminoácido.

Assim, as variações genéticas presentes no SOD1 podem promover alterações na atividade da enzima, desencadeando uma ineficácia na eliminação de radicais livres e na desintoxicação de ROS, alterando a função celular normal e prejudicando a maquinaria celular e, conseqüentemente, contribuindo para a carcinogênese. Dentre os tumores associados a polimorfismos presente no gene SOD1, a literatura reúne evidências no câncer gástrico (13), o câncer de mama (14) e o câncer de próstata (15).

## CONCLUSÕES:

Concluimos que alterações no gene SOD1 têm o potencial de provocar modificações estruturais e funcionais nas enzimas antioxidantes. Essas alterações podem resultar em enzimas anômalas, contribuindo significativamente para a criação de um ambiente propício ao desenvolvimento tumoral,

desempenhando um papel crucial na gênese do câncer de tireoide. Apesar de nosso estudo estar ainda em estágios iniciais e necessitar de validação adicional, ele ressalta a importância dessas variantes. A compreensão aprofundada dessas alterações poderá elucidar sua relação com o câncer de tireoide e contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de diagnóstico e tratamento.

## BIBLIOGRAFIA

1. Seib, C. D., & Sosa, J. A. (2018). Evolving Understanding of the Epidemiology of Thyroid Cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*.
2. Matsuo SE, Martins L, Leoni SG, Hajjar D, Ricarte-Filho JCM, Ebina KN, et al.. Marcadores biológicos de tumores tireoidianos. *Arq Bras Endocrinol Metab* [Internet]. 2004Feb;48(1):114–25. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302004000100013>.
3. Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Ther*. 2021 Jan-Mar;17(1):22-28.
4. El Hassani R.A., Buffet C., Leboulleux S., Dupuy C. Oxidative stress in thyroid carcinomas: Biological and clinical significance. *Endocr.-Relat. Cancer*. 2019;26:R131–R143. doi: 10.1530/ERC-18-0476.
5. Perillo B., Di Donato M., Pezone A., Di Zazzo E., Giovannelli P., Galasso G., Castoria G., Migliaccio A. ROS in cancer therapy: The bright side of the moon. *Exp. Mol. Med*. 2020;52:192–203. doi: 10.1038/s12276-020-0384-2.
6. Klaunig JE. Oxidative Stress and Cancer. *Curr Pharm Des*. 2018;24(40):4771-4778.
7. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) *J Biol Chem*. 1969;244:6049–6055.
8. Datkhile KD, Gudur RA, Bhosale SJ, Gudur AK, Durgawale PP, Jagdale NJ, More AL, Patil SR. Superoxide Dismutase (rs2070424, rs4880, rs2536512) and Catalase (rs794316, rs1001179) SNPs and their Association with Breast Cancer Risk: Findings from a Hospital Based Case-Control Study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2024 Jan 1;25(1):175-184.
9. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc*. 2009;4(7):1073-81.
10. AbdulAzeez S, Borgio JF. In-Silico Computing of the Most Deleterious nsSNPs in HBA1 Gene. *PLoS One*. 2016 Jan 29;11(1):e0147702.
11. Ashkenazy H, Abadi S, Martz E, Chay O, Mayrose I, Pupko T, Ben-Tal N. ConSurf 2016: an improved methodology to estimate and visualize evolutionary conservation in macromolecules. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jul 8;44(W1):W344-50.
12. Schwarte A, Genz M, Skalden L, Nobili A, Vickers C, Melse O, Kuipers R, Joosten HJ, Stourac J, Bendl J, Black J, Haase P, Baakman C, Damborsky J, Bornscheuer U, Vriend G, Venselaar H. NewProt - a protein engineering portal. *Protein Eng Des Sel*. 2017 Jun 1;30(6):441-447.
13. Eftekhari A, Peivand Z, Saadat I, Saadat M. Association between Genetic Polymorphisms in Superoxide Dismutase Gene Family and Risk of Gastric Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2020 Jan;26(1):335-339.
14. Gallegos-Arreola MP, Márquez-Rosales MG, Gómez-Meda BC, Zúñiga-González GM, Puebla-Pérez AM, Zamora-Pérez AL, Delgado-Saucedo JI, Figuera LE. SOD1 gene variants rs4817415, rs2070424, and rs1041740 and their association with breast cancer risk. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023 Apr;27(7):3088-3095.
15. Abe M, Xie W, Regan MM, King IB, Stampfer MJ, Kantoff PW, Oh WK, Chan JM. Single-nucleotide polymorphisms within the antioxidant defence system and associations with aggressive prostate cancer. *BJU Int*. 2011 Jan;107(1):126-34.