



Uma publicação semanal do Grupo Brasileiro de Estudos de Tumores Hereditários

Metilação e Instabilidade de Microssatélites em Câncer Colorretal

Samuel Aguiar Júnior

Departamento de Cirurgia Pélvica, Hospital do Câncer A.C. Camargo

Genetics supersedes epigenetics in colon cancer phenotype.

Yamashita K, Dai T, Dai Y, Yamamoto F, Perucho M

Cancer Cell 2003;4:121-31.

Metilação e
Instabilidade de
Microssatélites em
Câncer Colorretal
pg 1-2

Na maioria dos tumores colorretais de pacientes com HNPCC e em alguns tumores esporádicos é observada a instabilidade de microssatélites. A existência de um fenótipo metilador de ilhas de CpG (CIMP) foi postulado para explicar a hipermetilação somática associada ao silenciamento de vários genes entre os quais o gene *hMLH1* e outros genes supressores de tumor. O CIMP vem sendo apontado como uma via independente na carcinogênese colorretal.

Para testar esta hipótese foi analisada a presença de metilação em seis genes (*hMLH1*, *OMGMT*, *APC*, *CDH1*, *p16*, *p14*) através da "Methylation Specific PCR" (MSP) em 207 amostras de tumores colorretais pareadas com amostras de tecido normal. Através de um diagrama baseado no número de loci metilados por tumor foi observado um padrão gradual de metilação (Figura 1). No entanto, de acordo com a teoria CIMP, seria esperada uma distribuição bimodal da metilação. Portanto, o resultado observado neste estudo não é compatível com a teoria CIMP, pois não foi possível identificar

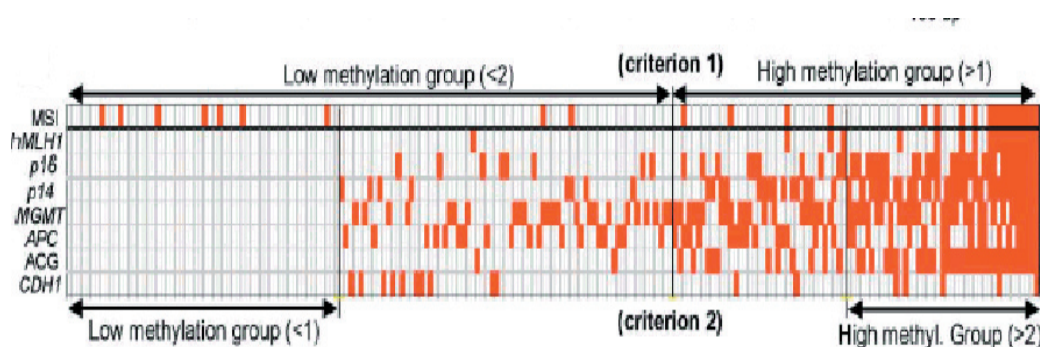


Figura 1 - Hipermetilação das ilhas de CpG em seis genes de 207 amostras de câncer colorretal (preenchido - gene metilado, em branco - gene sem metilação). A presença de instabilidade de microssatélites é indicada na linha superior (preenchido - com instabilidade; em branco - estável).



GBETH Newsletter

É uma publicação semanal distribuída aos sócios do Grupo Brasileiro de Estudos de Tumores Hereditários.

Sede

R José Getúlio, 579 cjs 42/43
Aclimação São Paulo - SP
CEP 01503-001

E-mail

gbeth2003@yahoo.com.br

Grupo de Discussão

<http://br.yahoo.groups>

Editor

Erika Maria M Santos

Diretoria

Presidente

Benedito Mauro Rossi

Vice-Presidente

Gilles Landman

Diretor Científico

Jose Cláudio C da Rocha

Secretário Geral

Fábio de Oliveira Ferreira

Primeira Secretária

Erika Maria M Santos

Tesoureiro

Wilson T Nakagawa

Conselho Científico

Beatriz de Camargo

Maria Aparecida Nagai

Maria Isabel W Achatz

Paulo Eduardo Pizão

Samuel Aguiar Jr

Conselho Fiscal

Titulares

André Lopes Carvalho

Gustavo Cardoso Guimarães

Stênio de Cássio Zequi

Suplentes

Fábio José Hadad

Mariana Morais C Tiossi

Milena J S F L Santos

um critério que estabeleça duas categorias de tumores – um grupo com padrão de metilação superior ao padrão do tecido normal e outro grupo com padrão de metilação inferior ao padrão do tecido normal.

A Figura 2 mostra o efeito do aumento no número de loci analisados da distribuição das metilações. A análise de apenas cinco loci mostrou uma redução gradual no número de tumores com múltiplas metilações. Entretanto, quanto maior o número de loci analisados, o padrão de distribuição adquiriu forma de uma distribuição Gaussiana, refletindo uma distribuição normal dos eventos de forma aleatória. Nenhum tumor permaneceu sem metilação após a análise de 35 loci.

As alterações na metilação estavam distribuídas gradualmente, sem limites precisos. As mutações nas seqüências de microssatélites, por outro lado, exibem uma distribuição descontínua, com um limite preciso em tumores com ou sem mutações abundantes.

Os autores realizaram em 32 amostras de tumores colorretais a avaliação do padrão global de metilação através da técnica MS-AFLP (“methylation-sensitive amplified fragment length polymorphism”).

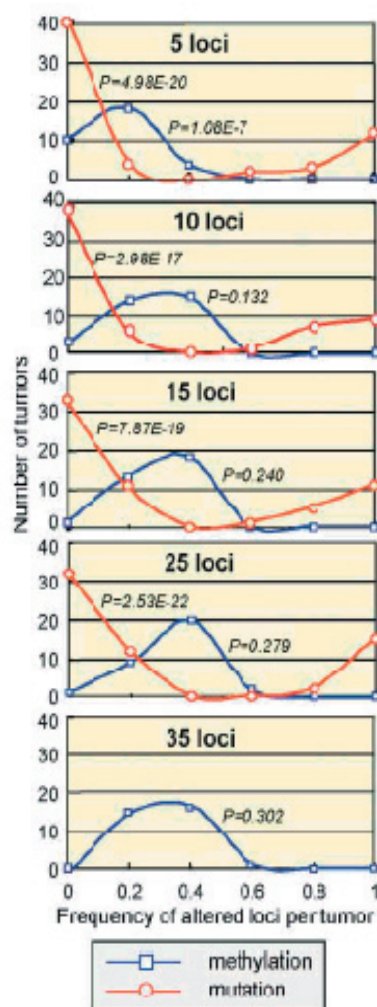


Figura 2 - A distribuição das alterações epigenéticas é dependente do número de loci analisados. Os tumores estão distribuídos quanto a percentagem dos loci metilados e mutados.

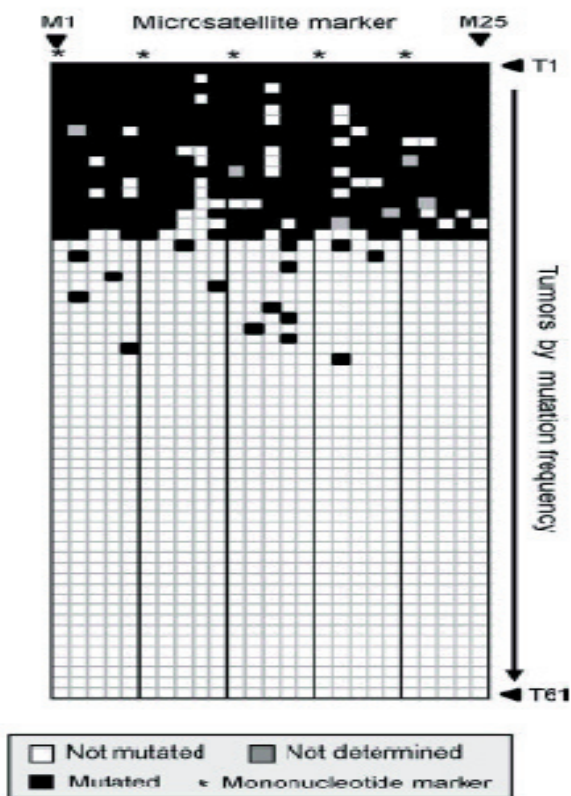


Figura 3 - A presença de MSI foi analisada em 25 marcadores em 61 tumores colorretais que estão distribuídas de acordo com a freqüência de mutações nos microssatélites.

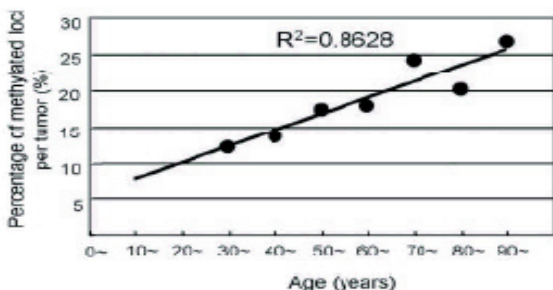


Figura 4 - Os 207 pcientes foram divididos em sete grupos de acordo com a idade. A média de loci metilados por tumor (%) é apresentada em cada grupo etário.

Essa técnica permite a análise de uma seqüência aleatória de ilhas de CpG no genoma; as alterações somáticas na metilação são reconhecidas como bandas de intensidade diferente nos produtos

de PCR do tumor e do tecido normal.

Cerca de 40% de todas as seqüências de CpG apresentaram alterações na metilação. Em média, a hipermetilação nos 32 tumores analisados estava presente em 21,5% das seqüências.

Os tumores foram divididos quanto ao padrão de metilação: um grupo com duas ou mais metilações em ilhas de CpG e outro grupo com uma ou nenhuma ilha metilada. Foi observada uma associação significativa entre a presença de metilação e tumores localizados no cólon direito. Não foram observadas associações significativas entre a presença de metilação e outros parâmetros observados (gênero, progressão, diferenciação, mutações em *K-ras* ou *p53*).

O painel com a distribuição dos tumores quanto a presença de instabilidade de microssatélites é apresentada na Figura 3. Os tumores com MSI apresentaram diferenças significativas em relação aos tumores com microssatélites estáveis. Os tumores com MSI eram predominantemente localizados no cólon direito, apresentaram menor progressão tumoral, e exibiam um padrão menos diferenciado. Os tumores com MSI também apresentavam menor incidência de mutações nos genes *K-ras*, *APC* e *p53*.

A localização no cólon direito foi compartilhada pelos tumores com hipermetilação e MSI. A única característica dos tumores com hipermetilação que não foi observada nos tumores com MSI foi a associação a idade avançada. A metilação nas ilhas de CpG aumentou com o envelhecimento (Figura 4).

Programação das Próximas Reuniões
 Dia/Horário: Terças-feiras das 9 às 10 horas
 Local: Sala de Reuniões da Pediatria

Data	Tema	Coordenador
11/11/2003	Novos mecanismos envolvidos na carcinogênese colorretal	Fábio O Ferreira