



Uma publicação semanal do Grupo Brasileiro de Estudos de Tumores Hereditários

Detecção da hipermetilação em promotores dos genes *14-3-3 σ* , *RAR β* , *APC* e *E-CAD* como marcador molecular para o câncer de bexiga

Mariana Brait

Laboratório de Genética do Câncer – Instituto Ludwig

Hipermetilação em
câncer de bexiga
pg 1-4

Cerca de 90% dos tumores malignos de bexiga são carcinomas de células transicionais. Na apresentação, 75% são superficiais, no entanto, 30% a 80% recorrem e 10% a 30% progridem.

O diagnóstico do câncer de bexiga pode ser realizado através da cistoscopia e da citologia urinária. A cistoscopia é um exame invasivo, com risco de infecção urinária; a citologia urinária é um método de alta especificidade, porém com baixa sensibilidade (50%). Nesta perspectiva, a identificação de marcadores moleculares na urina possibilitaria o diagnóstico do câncer de bexiga de maneira não invasiva e com alta sensibilidade e especificidade.

Os marcadores moleculares também podem ser empregados no estadiamento, prognóstico e acompanhamento dos pacientes e devem ter as seguintes características: alta especificidade e sensibilidade; ser empregado para triagem populacional e detectáveis em líquidos biológicos (urina, sangue). Os marcadores moleculares podem identificar alterações nas seqüências de genes, na expressão gênica e nas funções ou estruturas de proteínas.

As alterações descritas em tumor de bexiga são: deleção do cromossomo 9; deleções em 13q (*RB locus*) e em 17p (*p53 locus*).

A principal modificação epigenética no câncer de bexiga é a metilação da citosina localizada nas “ilhas” CpG. Cerca de 3% a 4% de todas as moléculas de citosina são metiladas, o que corresponde a 0,75% a 1% do total de nucleotídeos no DNA normal. Os dinucleotídeos CpG estão concentrados em regiões denominadas “ilhas” que geralmente estão sem metilação.

Os genes só podem ser transcritos se três critérios estão presentes: fatores de transcrição estão disponíveis, as histonas estão acetiladas e não metiladas e as citosinas nas “ilhas” de CpG estão não metiladas.

A metilação é um processo natural de inativação gênica, como por exemplo

Programação das
Reuniões
pg 3



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

temos a metilação em um dos cromossomos X na mulher, que causa sua inativação. A metilação tem sido proposta como um mecanismo para a expressão seletiva de genes nos tecidos.

O equilíbrio epigenético das células normais é quebrado quando a célula torna-se cancerosa. As alterações epigenéticas podem ser divididas em duas categorias: a hipometilação global genômica e o silenciamento transcricional de genes supressores de tumores através da hipermetilação.

Quando a hipermetilação (que ocorre em uma determinada região normal não metilada) ocorre na região promotora de um gene, a ligação dos fatores de transcrição é impedida, e assim, a expressão gênica é bloqueada.

O fenômeno de hipermetilação é descrito em diversos tumores, tais como: mama, cólon, estômago, pulmão e bexiga.

Maruyama et al.¹ avaliaram a presença de metilação em 10 genes a partir de 98 amostras de tumores de bexiga. O gene metilado com maior frequência foi o *ECAD* (36%), seguidos pelos genes *RASSF1A* (35%), *APC* (35%) e *HCAD* (29%). Foi identificada uma correlação significativa entre a presença de metilação no promotor do *ECAD* e tempo menor de sobrevida.

Em 2002, Chan et al.² avaliaram a metilação em sete genes em 98 tumores de bexiga. Em 90,9% dos tumores foi identificada a presença de metilação em pelo menos quatro genes. O gene mais frequentemente metilado foi o *RARβ* (87,8%); o gene *ECAD* estava metilado em 63,3% das amostras; o *DAPK* em 58,2% e o gene *p16* estava metilado em 26,5% dos casos. Foi observada uma alta correlação entre a metilação no tumor e nas células encontradas na urina.

Tada et al.³ observaram correlação significativa entre a presença de metilação no promotor *DAPK* e maior frequência de recidiva em tumores de bexiga.

Este projeto tem como objetivo principal estabelecer a frequência de metilação de regiões promotoras dos genes *14-3-3σ*, *RARβ*, *APC* e *ECAD* em câncer de bexiga e avaliar esta alteração como possível marcador molecular para diagnóstico, prognóstico e seguimento de pacientes portadores desta neoplasia.

Outros objetivos deste estudo são: determinar a frequência de metilação na região promotora dos genes em amostras de urina colhidas no momento da cirurgia, antes da alta e em duas visitas de seguimento; correlacionar os dados clínico-patológicos com os padrões de metilação; avaliar o nível de metilação através de *PCR* específica para a alteração

de detecção em tempo real (MSP).

Foram avaliadas 73 amostras de tumores de bexiga. Em 71,2% dos tumores foi detectada a metilação do promotor do gene *14-3-3 σ* dos tumores apresentaram metilação no gene *APC*; 49,3% das amostras apresentaram metilação no gene *RAR β* e foi observada 28,8% de metilação do gene *ECAD*.

Estavam disponíveis para avaliação amostras de urina de quatro pacientes. Foi realizada a análise de metilação nessas amostras e verificada a correlação com o padrão de metilação nas amostras tumorais. O Quadro 1 apresenta a presença de metilação nessas amostras.

Em três dos quatro pacientes foi observado o mesmo padrão de metilação nas amostras de urina e tumorais.

Ao avaliar a relação entre a metilação dos genes e as características clinicopatológicas, observou-se que os tumores T1 apresentaram maior frequência de metilação no gene *14-3-3 σ* do que os tumores Ta, diferença que foi estatisticamente significativa. O gene *14-3-3 σ* está envolvido no processo de parada do ciclo

celular em G2 em resposta ao dano ao DNA; é regulador da senescências das células e tem características de um gene supressor de tumor.

A hipermetilação dos genes *14-3-3 σ* , *RAR β* , *APC* e *ECAD* parece ser importante para a tumorigênese de bexiga. Como a frequência de metilação em um ou mais genes foi de quase 91%, esse painel parece ser útil para o acompanhamento de pacientes portadores de CCT de bexiga.

A hipermetilação do gene *14-3-3 σ* parece participar na progressão do câncer de bexiga (Figura 1). Essa alteração poderia ser utilizada para acompanhamento dos pacientes portadores de CCT, indicando a recidiva e/ou progressão da doença.

Referências Bibliográficas

1 Maruyama R, Toyooka S, Toyooka KO, Harada K, Uirmani AK, Zochbauer-Muller S et al. Aberrant promoter methylation profile of bladder cancer and its relationship to clinical/pathological features. *Cancer Res* 2001;61: 8659-63.

Quadro 1 - Padrão de metilação das amostras tumorais e de urina de quatro pacientes (a célula colorida indica a metilação do gene).

Caso	14-3-3g	RARb	APC	ECAD
32 urina				
32 tumor				
34 urina				
34 tumor				
35 urina				
35 tumor				
36 urina				
36 tumor				

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

Data	Discussão de Artigo	Coordenador
25/11/2003	“The hallmark of cancer” Hanahan D, Weinberg RA. <i>Cell</i> 2000; 100:57-70	Samuel Aguiar Jr

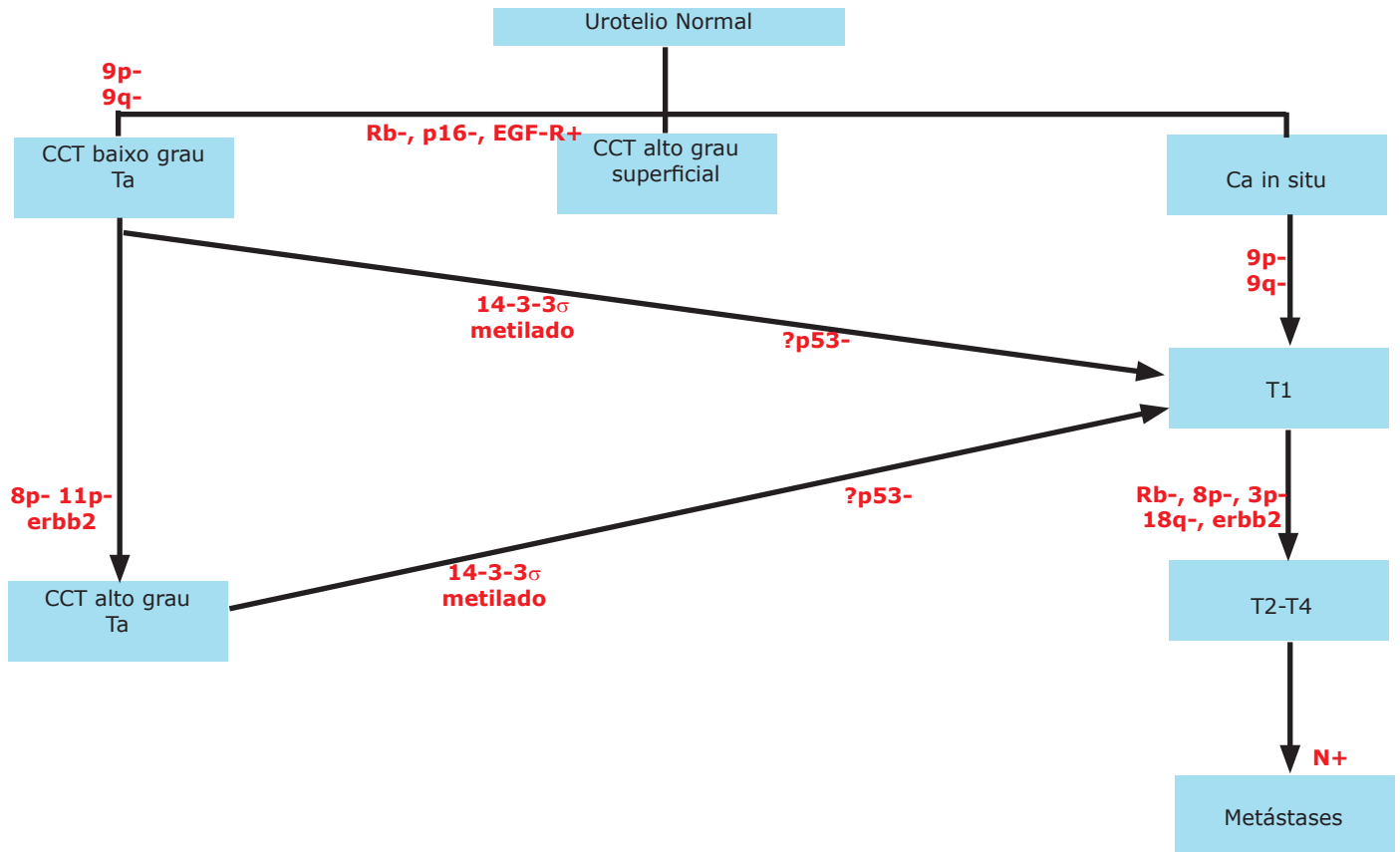


Figura 1 - Fenômenos moleculares no câncer de células transicionais de bexiga.
Adaptado de Jung e Messing⁴

2 Chang MW, Chan LW, Tang NL, Tong JH, Lo KW, Lu TL et al. Hypermethylation of multiple genes in tumor genes and voided urine in urinary bladder cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002;8: 464-70.

3 Tada Y, Wada M, Taguchi K, Mochida Y, Kinugawa N, Tsuneyoshi M et al. The association of death - associated protein kinase hypermethylation with early recurrence in superficial bladder cancer. *Cancer Res* 2002;62:4048-53.

4 Jung I, Messing E. Molecular mechanism and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control* 2000;7:325-34.

Artigo de Revisão

Esteller M. Relevance of DNA methylation in the management of cancer. *Lancet Oncol* 2003;4: 351-8.