

Epigenética e Câncer

Monitores:
Daniel F. S. Pires
Marcelo R. Vilas Boas

Epigenética são as alterações da cromatina e do DNA que são estáveis nas divisões celulares e não alteram a seqüência de nucleotídeos. Alguns de seus mecanismos são a metilação do DNA e a modificação de histonas.

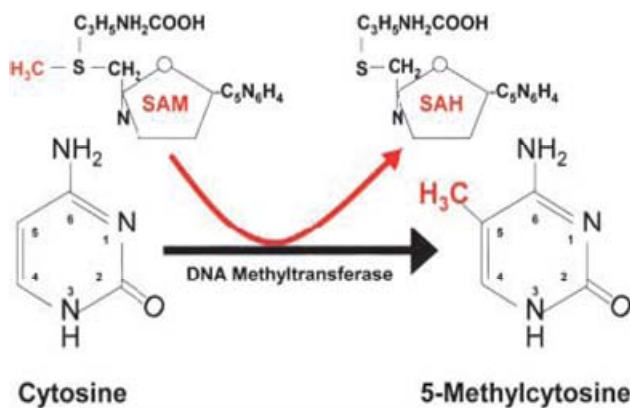
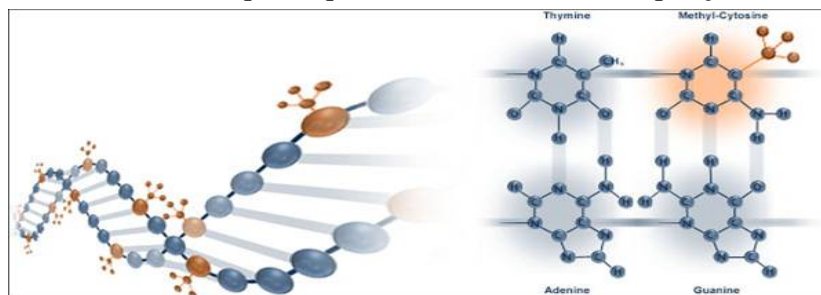
Nos processos de oncogênese, existe uma grande influência dos mecanismos epigenéticos, os quais parecem ser importantes por alterarem a expressão de genes chave na oncogênese. Atualmente se questiona quais eventos seriam os primeiros a ocorrer no desenvolvimento de um tumor, já que várias etapas são necessárias até a formação de uma célula maligna, e alterações epigenéticas são presenciadas em praticamente todos os tumores conhecidos. Há possibilidade de que o mecanismo deflagrador do desenvolvimento de um câncer seja uma mutação epigenética, que causaria uma instabilidade do genoma permitindo outras mutações necessárias na formação de um tumor.

Metilação do DNA: é a adição de um grupo metil à citosina. Esse processo é feito pelas metiltransferases do DNA (DNMT) que adicionam o grupo metil ao carbono 5 da citosina, gerando a 5-metilcitosina. Ocorre quase que exclusivamente nas repetições de C

ao lado de G, que muito freqüentemente formam as chamadas ilhas CpG (ver adiante). Cerca de 3% das citosinas do DNA humano estão metiladas, sendo a maior parte delas localizadas nas ilhas

CpG e um percentual muito menor localizado nas seqüências CpNpG (N = qualquer nucleotídeo). A 5 metilcitosina é quimicamente instável, e pode sofrer desaminação espontânea resultando em timina. O padrão de metilação é apagado no início da embriogênese e restabelecido no desenvolvimento. Esse processo se acentua com o envelhecimento.

Nos vertebrados, a seqüência CpG é um sinal para a metilação pelas metiltransferases de DNA. A principal função da metilação nestes organismos é a repressão da expressão gênica. Seqüências de DNA não devem estar metiladas para serem transcritas (ao menos na região promotora). Por reduzir



a expressão de genes desnecessários, a metilação pode ter permitido o aumento do número de genes e, conseqüentemente da complexidade que caracteriza esses organismos.

Ilhas CpG: São regiões ricas em citosina e guanina (geralmente acima de 50% dos nucleotídeos da região), diferenciando-se do resto do genoma. Genes que são grandemente expressados têm ilhas CpG associadas que ficam localizadas quase sempre na ponta 5' do gene, geralmente na região do promotor e, algumas vezes, se estendendo ao primeiro exon. Entretanto, nos genes com padrão de expressão restrito, a ilha CpG associada está localizada abaixo do sítio de iniciação da transcrição. Recebem este nome porque, embora tenham tendência à metilação, são normalmente protegidas deste evento.

Exemplos de genes com alterações epigenéticas relacionadas a câncer.

H19/IGF2: Nesse caso, existe a ocorrência de perda de *imprinting*. Acredita-se que o H19 seja um gene supressor de tumor. Somente o seu alelo materno costuma ser expresso. Já o IGF2 codifica um fator de crescimento e só é expressa a sua cópia paterna. O silenciamento do H19 materno por hipermetilação, induz a ocorrência de transcrição mais abaixo no mesmo cromossomo, levando a uma expressão bialélica do gene IGF2.

IGF2: Em células normais, um dos alelos do gene IGF2 está sempre silenciado por metilação. Em casos em que não ocorre o silenciamento de um dos alelos, o IGF2 passa a sofrer transcrição exagerada, levando a uma produção aumentada desse potente fator de crescimento. A hipometilação do IGF2 é encontrada no epitélio aparentemente normal de pacientes portadores de tumores colorretais e pode ser associada a risco aumentado de desenvolver esse tipo de câncer, além de tumor de Wilms.

P16^{ink4A}: é um gene supressor de tumor cujo silenciamento por hipermetilação pode estar presente em tumores de pulmão. A perda de função do P16^{ink4A} parece facilitar a oncogênese por permitir o surgimento de instabilidade genômica, que pode resultar no silenciamento de outros genes supressores de tumor.

Outros exemplos do papel do silenciamento epigenético de genes da oncogênese referem-se a genes supressores de tumor clássicos. Mutações desses genes em linhagens germinativas resultam em formas familiares de câncer. No silenciamento epigenético desses genes, surgem casos de tumores não familiares de comportamento semelhante aos da forma familiar. Podem ser citados os genes VHL (câncer renal), APC, (câncer de cólon) e BRCA1 (câncer de mama).

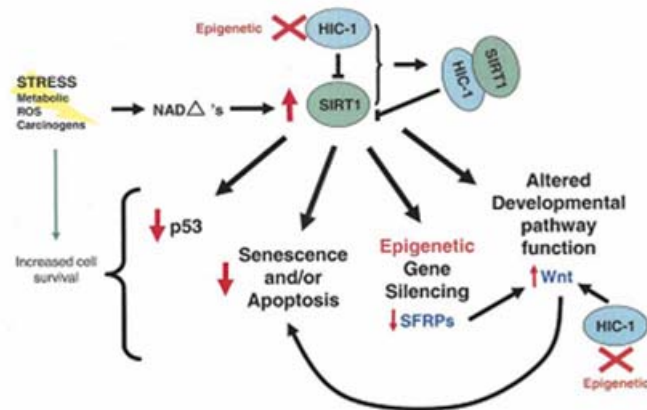
SIRT 1: SIRT1 é uma proteína de múltiplas funções sensível ao estresse. É um membro do grupo das histonas desacetilases de classe 3. A atividade desacetilase da SIRT1 pode modificar em nível de pós tradução a atividade da p53, reduzindo a sua atividade de fator de transcrição.

A resposta tecidual normal ao estresse e a lesão é transitória e deve coordenar renovação celular, reparo tecidual e apoptose. A resposta apoptótica depende de um *checkpoint* mediado pela p53 para evitar sobrevivência celular após exposição a citocinas e aumento de espécies reativas de oxigênio que podem causar dano ao DNA. Essa resposta normal à inflamação aguda usa um circuito de *feedback* para modular a resistência ao

estresse, permitindo que ocorra a repopulação adequada de células. Uma sobrevivência celular anormalmente longa durante exposição crônica a tal estresse pode ser o evento primordial na expansão clonal que promove risco de tumor no cólon.

O primeiro ponto do circuito epigenético que liga SIRT1 a essas respostas anormais de sobrevivência envolve o silenciamento do gene HIC1, que ocorre no início da progressão de tumores.

HIC1 é um gene repressor de transcrição, cuja expressão é ativada pela p53. As proteínas SIRT1 e HIC1 se ligam e formam um complexo que suprime a transcrição do gene SIRT1. Em condições normais de resposta ao estresse, a expressão do SIRT1 é induzida, sendo suprimida no momento adequado pelo complexo



HIC1-SIRT1. Na ausência da proteína HIC1, o acúmulo da proteína SIRT1 impede a cessação adequada da resposta ao estresse, além de suprimir a função da p53, favorecer o silenciamento epigenético de outros genes e ativar a rota de desenvolvimento Wnt (reposição celular no intestino).

Modificação de Histonas

Acetilação de Histonas: É a mais investigada das modificações de histonas, sendo um mecanismo de estímulo à transcrição. Várias acetiltransferases de histonas (HATs) foram descritas como catalizadores da adição de um grupo acetil (CH₃CO) aos resíduos lisina das cadeias laterais dos octâmeros de histonas. As HATs funcionam como co-ativadores da transcrição, sendo o seu efeito final a facilitação do acesso às regiões promotoras da transcrição.

Desacetilação de Histonas: As desacetilases de histonas (HDACs) tem função oposta as HATs, removendo os grupos acetil e causando repressão da transcrição. Acredita-se que as HDACs são recrutadas como parte do complexo de repressão por metilação do DNA.

Metilação de Histonas: É promovida por algumas metiltransferases que tem como alvo determinados resíduos de arginina e de lisina nas histonas, particularmente a histona 3. A metilação de arginina nas histonas é relacionada à ativação da transcrição; entretanto, a metilação de lisina é relacionada à repressão da transcrição. O padrão de metilação das histonas influencia a metilação do DNA, contribuindo para uma menor ou maior compactação da cromatina, respectivamente.

Medicamentos

Com os grandes avanços no conhecimento sobre a influência da epigenética na oncogênese, passou-se a considerar o uso de medicamentos que atuam nessa área para impedir a progressão de tumores. Entre os medicamentos que atuam sobre mecanismos epigenéticos estão:

5-azacitidina: nucleosídeo com ação inibidora da metilação do DNA por inibir as DNA metiltransferases. Tem ação antineoplásica comprovada. Apresenta sérios efeitos colaterais como trombocitopenia, neutropenia e, em altas doses, mielosupressão.

Procainamida: Já foi usado como antiarrítmo cardíaco. É um inibidor não competitivo das DNA metiltransferases. Se mostrou eficaz no tratamento de câncer de próstata, que se caracteriza por uma grande quantidade de ilhas CpG hipermetiladas.

Procaína: Composto semelhante a procainamida. Provoca hipometilação global do DNA, restaurando a expressão de genes supressores de tumor e inibindo a progressão de tumores. Esta droga aumenta a eficácia de diversos quimioterápicos, além de aumentar a suscetibilidade das células malignas à radioterapia. Além disso, por não ser incorporada ao DNA, produz consideravelmente menos efeitos colaterais do que os nucleosídeos.

Hidralazina: Comumente usada como antihipertensivo, pois é um vasodilatador. Usada como droga antineoplásica por sua inibição da metilação em linfócitos T. Assim como outros agentes inibidores da metilação, podem produzir uma síndrome chamada *lupus like*, pois induzem a auto reatividade de linfócitos T.

Existem ainda medicamentos que atuam sobre mecanismos epigenéticos que estão em fase de desenvolvimento, como Pivanex, FK – 228, PXD – 101, NVP – LAQ 824, SAHA, MS – 275, MGCD 0103.

Bibliografia:

- The cancer epigenome - components and functional correlates. Angela H. Ting, Kelly M. McGarvey and Stephen B. Baylin (2006).
- Histone Deacetylase Inhibitors: Latest Developments, Trends and Prospects. Oscar Moradei, Christiane R. Maroun, Isabelle Paquin and Arkadii Vaisburg (2005).