

# V CURSO DE VERÃO PESQUISA EM ONCOLOGIA

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva

Curso  
Teórico - Prático

De 21 de Janeiro a  
1 de fevereiro de 2013

## Alterações epigenéticas em câncer: mecanismos e biomarcadores

Sheila Coelho Soares Lima  
Programa de Carcinogênese Molecular

Image courtesy of Oliver Bampton/ welcome images.  
Projeto Gráfico: Serviço de Edição e Informação Técnica - Científica/INCA

APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA



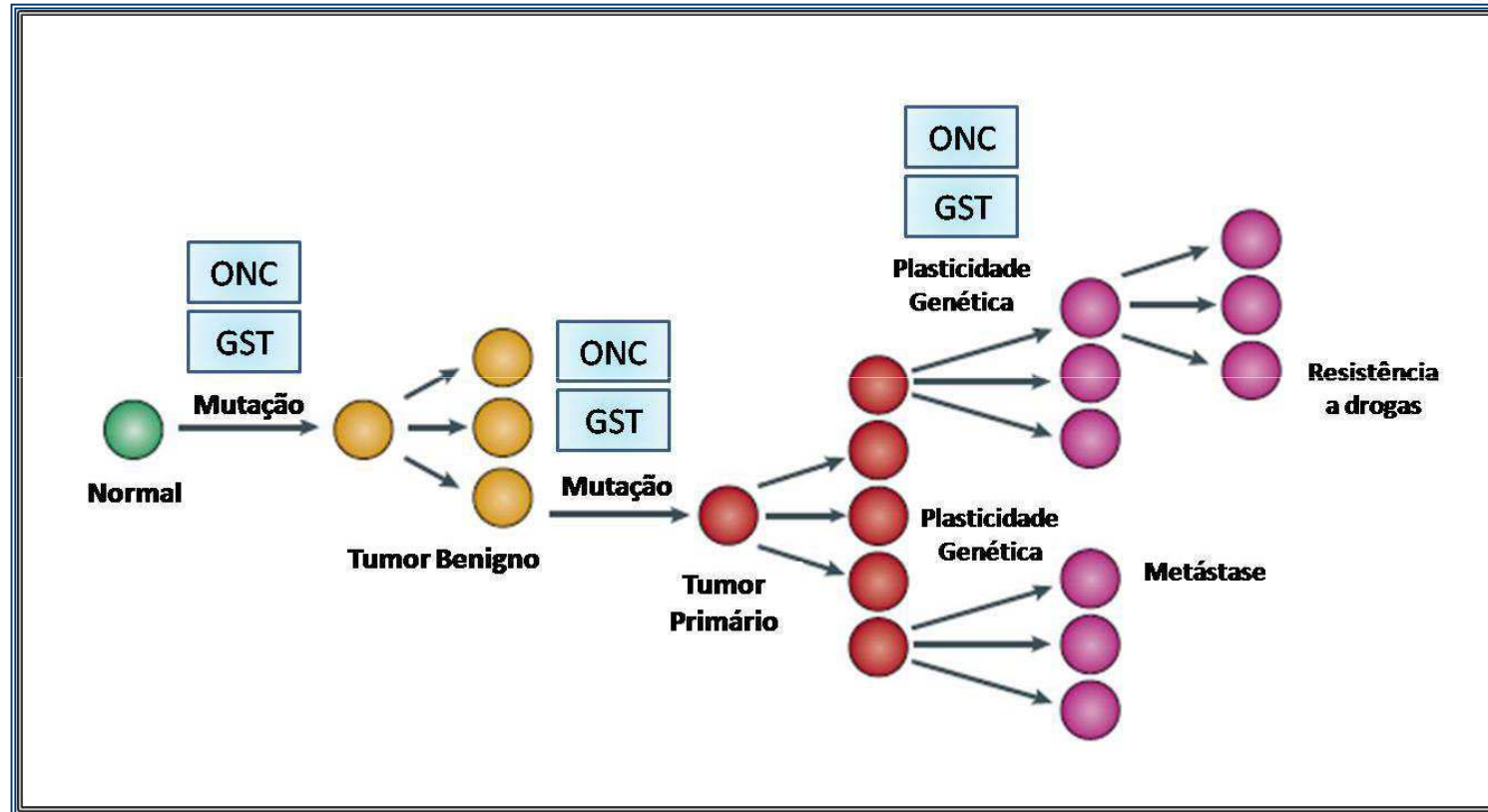
# Câncer



- O câncer foi responsável por 13% das mortes no mundo em 2002, sendo que 70% destas ocorreram em países em desenvolvimento (OMS).
- O câncer é uma doença cumulativa que se origina ao curso de cerca de 30 anos por meio da aquisição de uma série de alterações moleculares.

# Câncer

## ➤ Modelo genético clonal



Adaptado de Feinberg *et al.*, 2006.

APOIO



REALIZAÇÃO

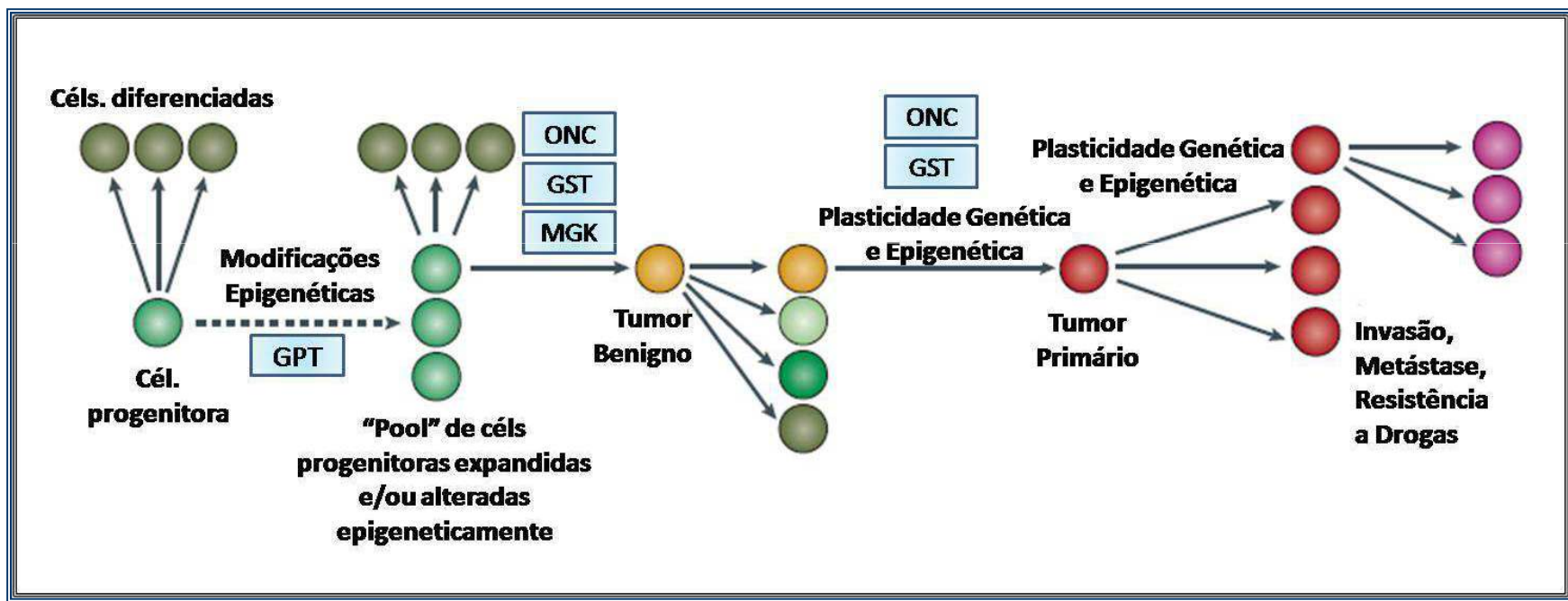


Ministério da Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

# Câncer

## ➤ Modelo do progenitor epigenético



Adaptado de Feinberg *et al.*, 2006.

APOIO



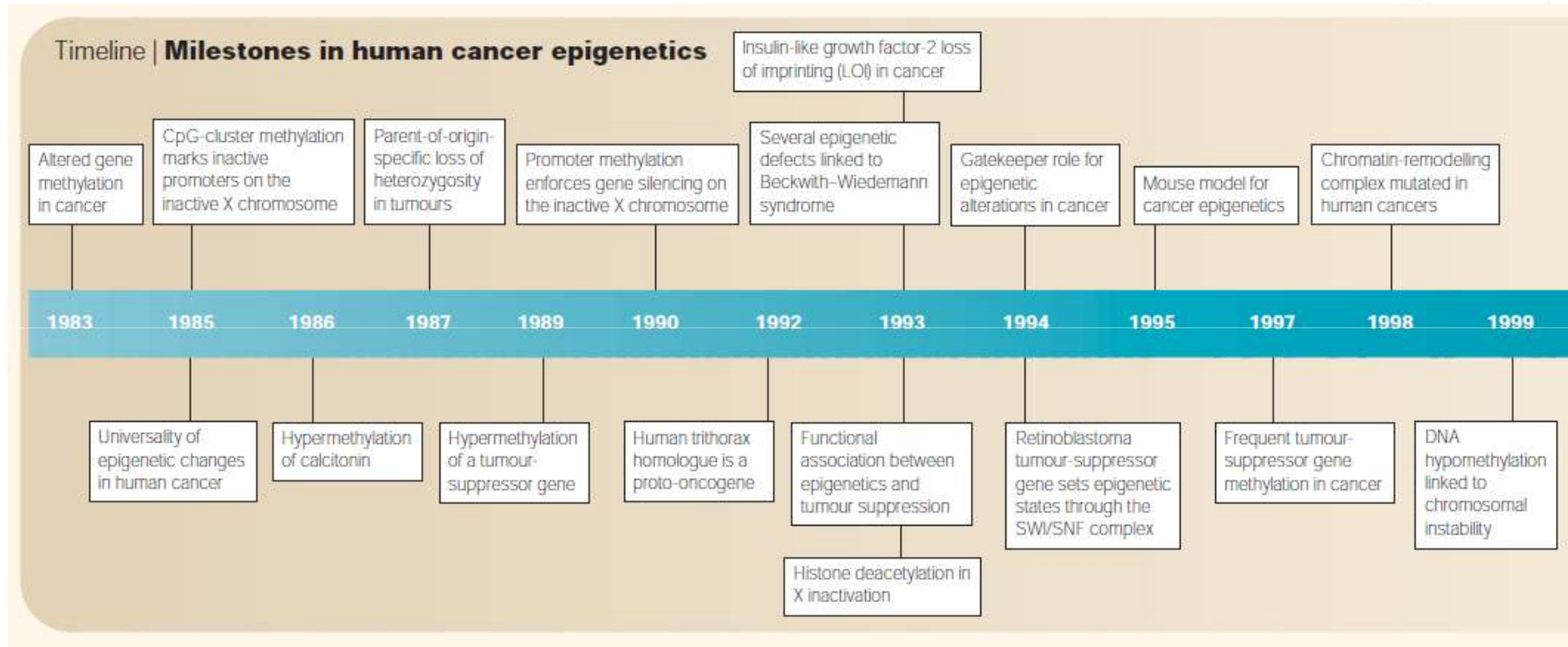
REALIZAÇÃO



Ministério da Saúde



# Alterações Epigenéticas em Câncer



Feinberg e Tycko, 2004.

APOIO



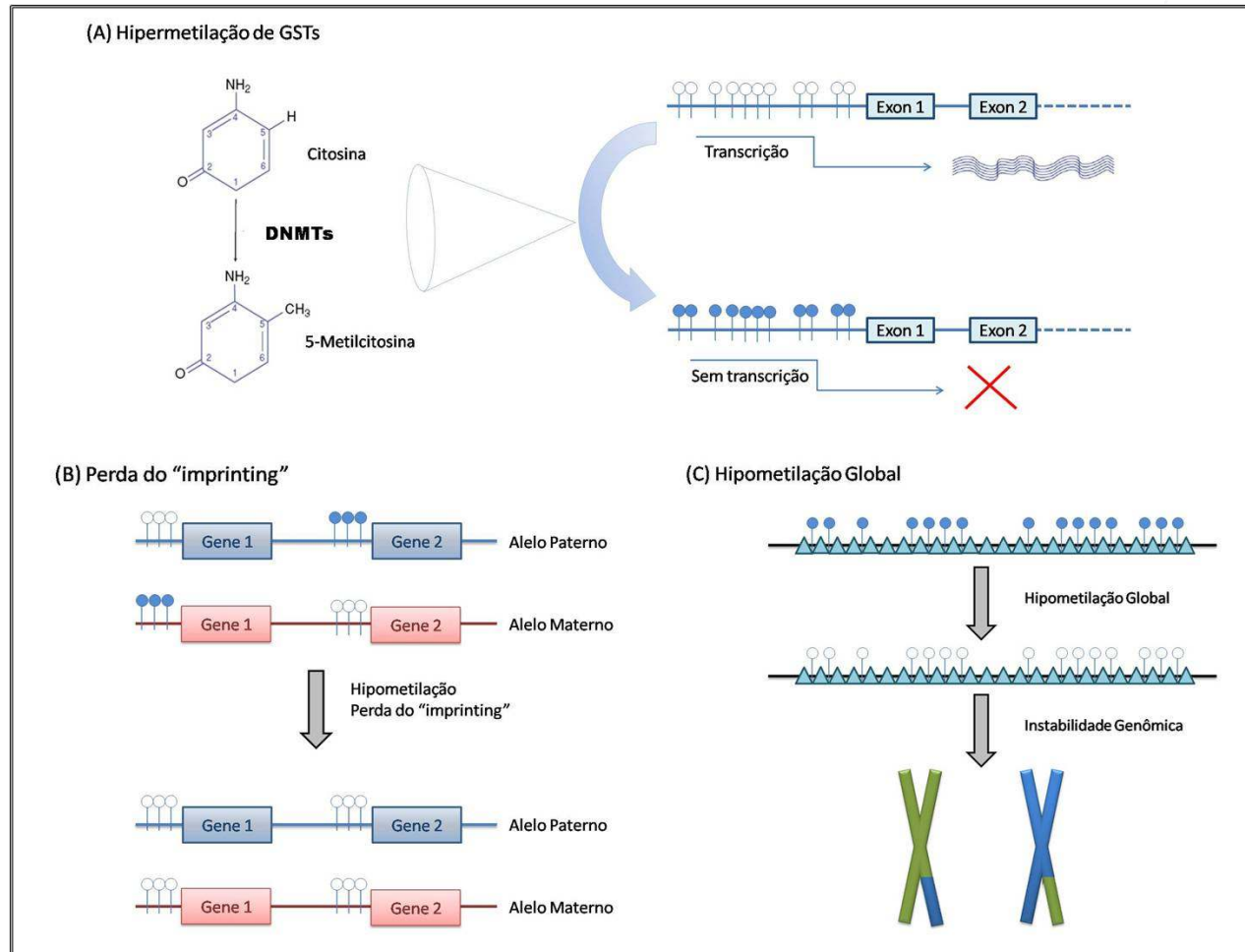
REALIZAÇÃO



Ministério da Saúde

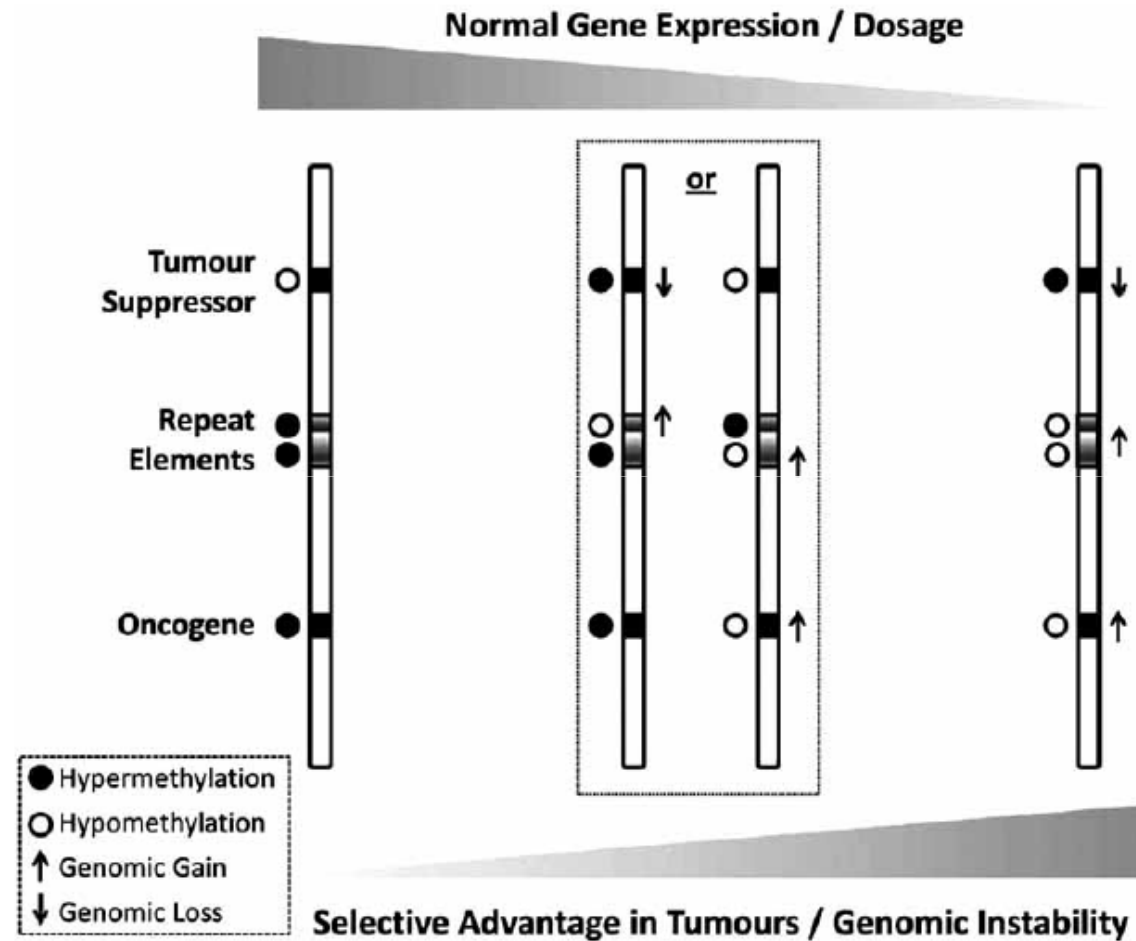


# Alterações Epigenéticas em Câncer



Lima, 2012.

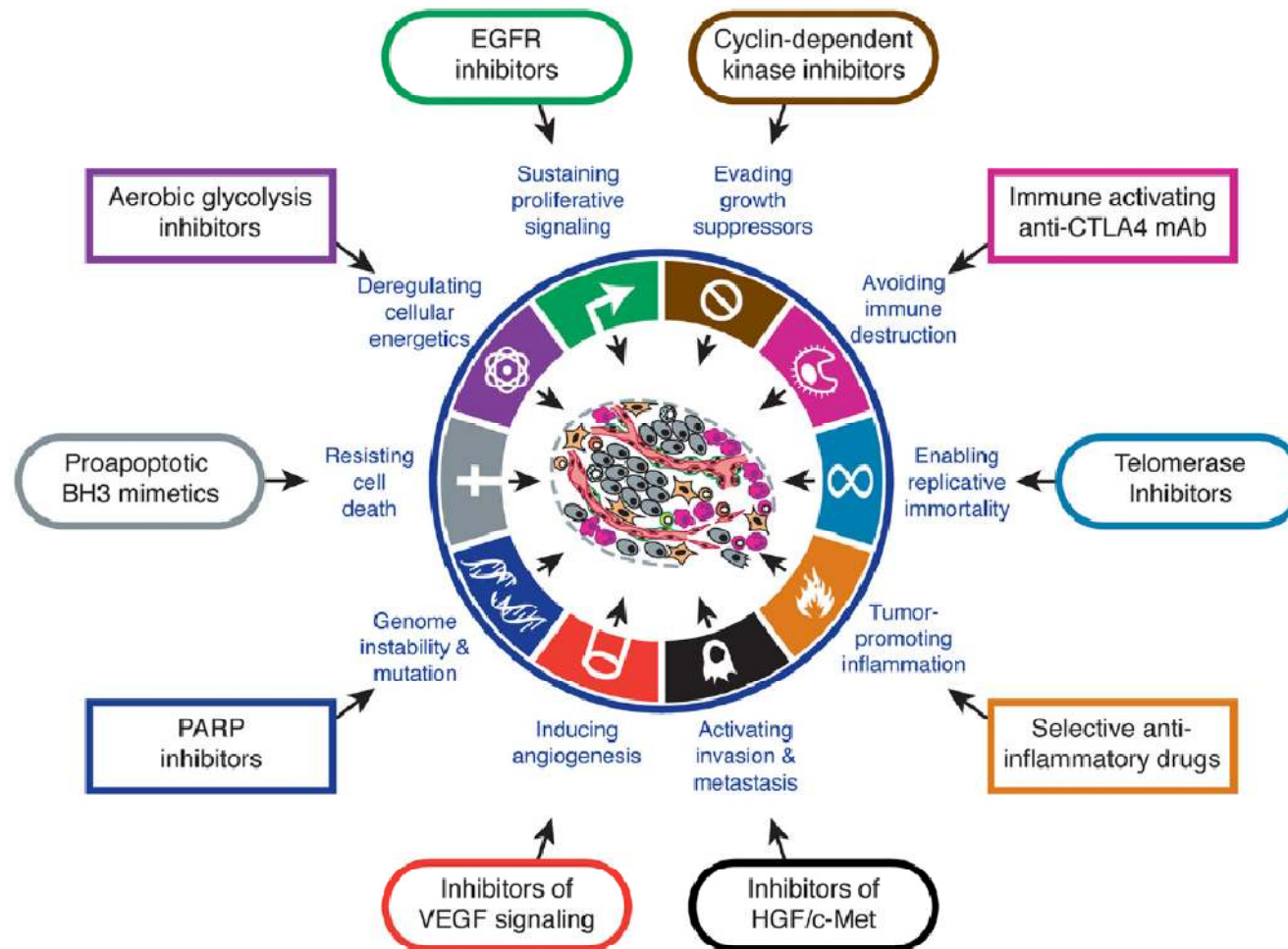
# Alterações Epigenéticas em Câncer



Sadikovic *et al.*, 2008.



# Alterações Epigenéticas em Câncer



Hanahan e Weinberg, 2011.



# Programa de Carcinogênese Molecular

Busca por Biomarcadores

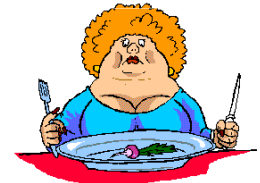
Potenciais Alvos Terapêuticos

Compreensão de Mecanismos

Câncer de Tireóide



Câncer de Endométrio



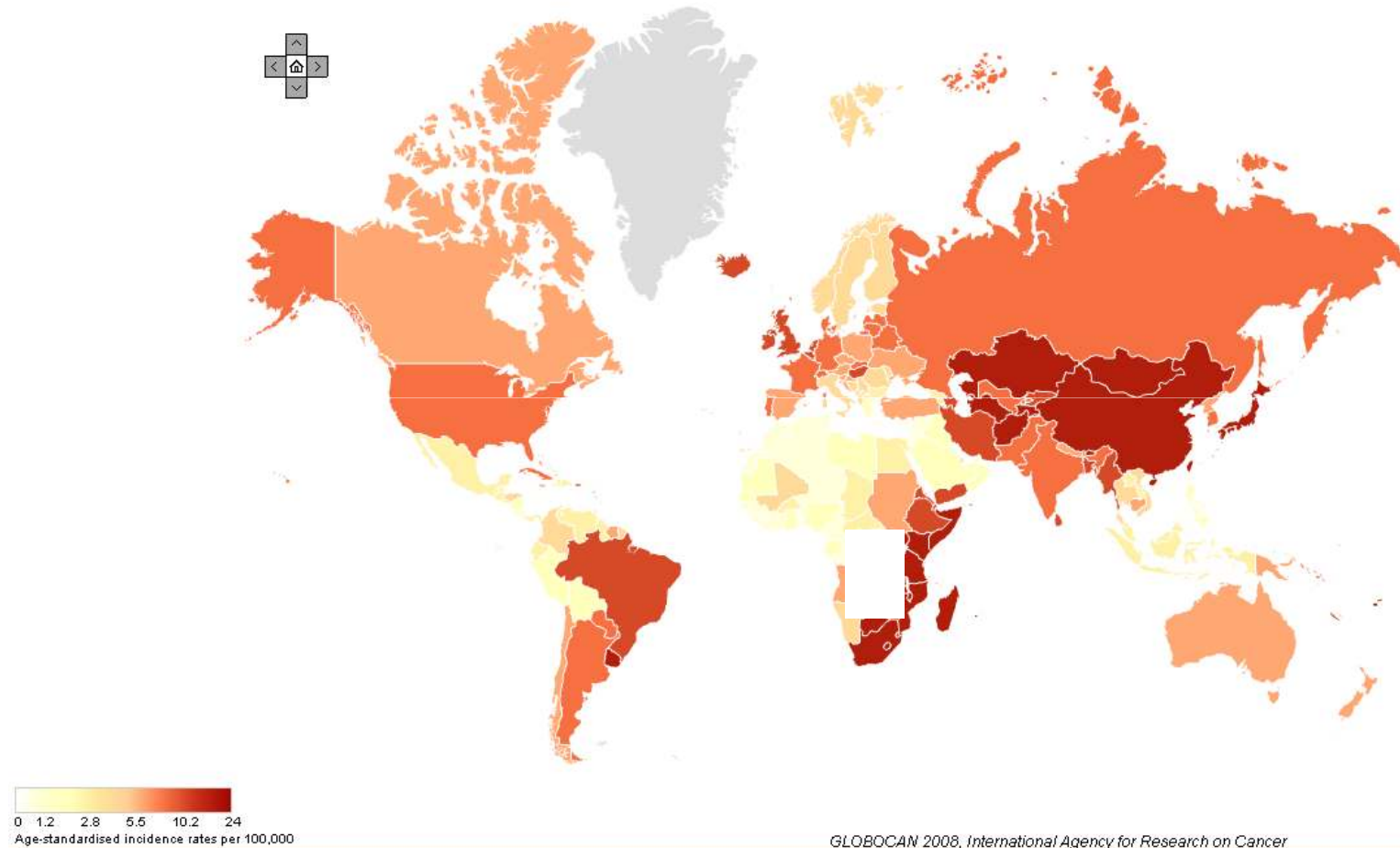
Câncer de Cabeça e Pescoço

Câncer de Esôfago



## ➤ Câncer de esôfago

▲ Estimated Oesophageal Cancer Incidence Worldwide in 2008: Men



GLOBOCAN, 2008.

APOIO



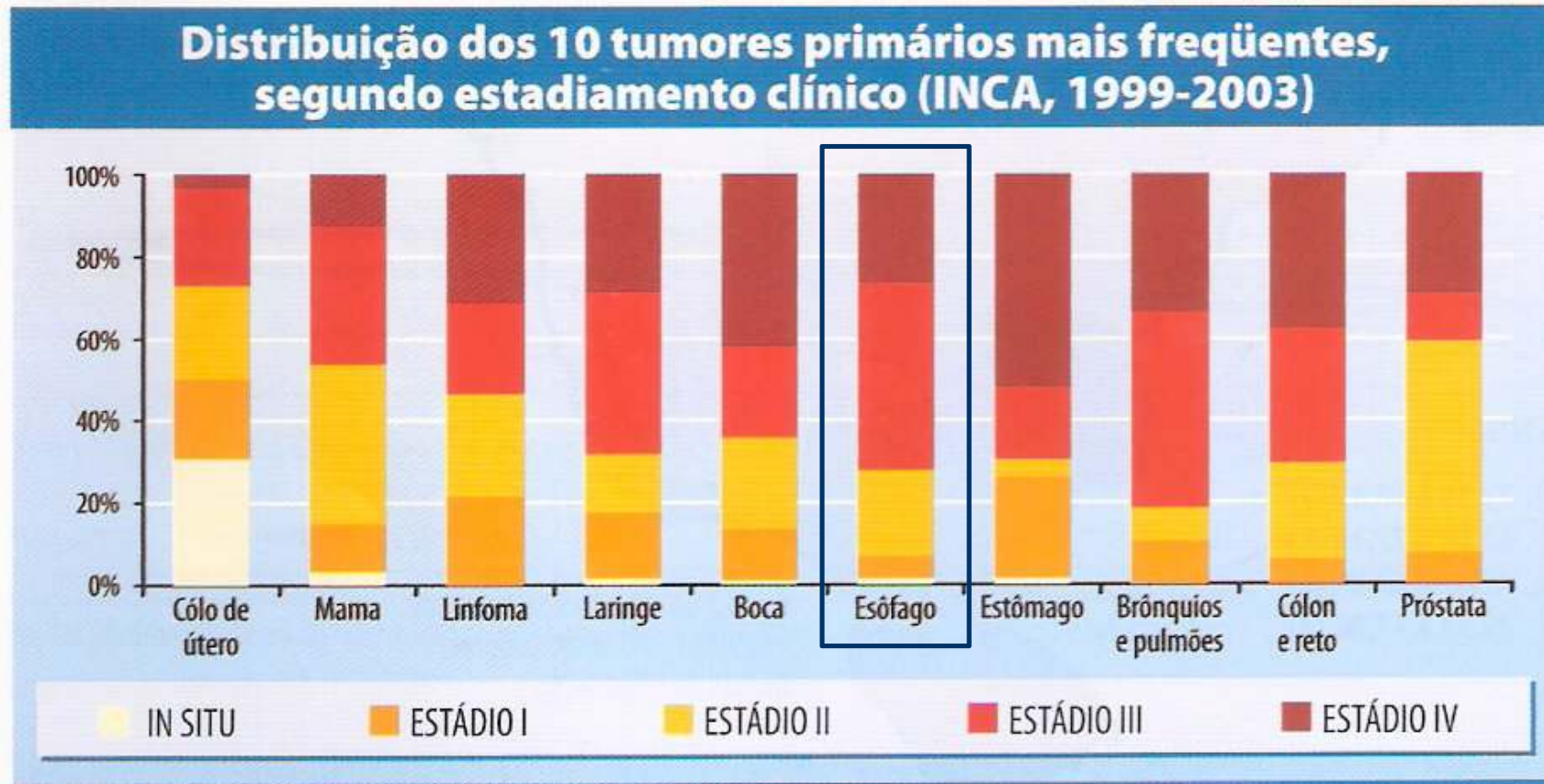
REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

## ➤ Câncer de esôfago



Fonte: Registro Hospitalar de Câncer, Hospital do Câncer – Unidade I, II e III /INCA/MS.

APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da Saúde





## ➤ Câncer de esôfago

- Razão entre incidência e mortalidade para diferentes tipos de tumor no Brasil

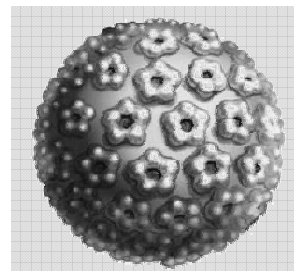
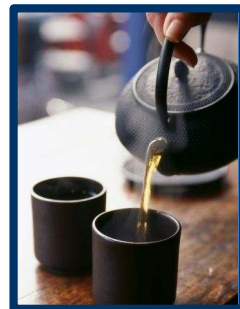
Localização primária	Homens	Mulheres
Próstata	4,9	-
Pele melanoma	4,2	5,6
Cavidade oral	3,2	4,5
Mama	-	4,7
Colo do útero	-	4,2
Colo do útero + útero, SOE*	-	3,4
Cólon e reto	2,8	2,8
Estômago	1,9	2,0
Leucemias	2,0	1,8
Esôfago	1,7	1,9
Pulmão	1,5	1,6
Pele não-melanoma	90,3	145,7
Todas as neoplasias	3,1	3,7
Todas as neoplasias, exceto pele	2,5	3,0

\* sem outra especificação. Fonte: MS/INCA

## ➤ Fatores de risco para CEE



Carcinoma  
Epidermóide de  
Esôfago (CEE)



Castellsagué *et al.*, 1999.

APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA





Experimental and Molecular Pathology 91 (2011) 584–589



Contents lists available at ScienceDirect

## Experimental and Molecular Pathology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yexmp](http://www.elsevier.com/locate/yexmp)



### Quantitative evaluation of *SPRR3* expression in esophageal squamous cell carcinoma by qPCR and its potential use as a biomarker

Tatiana de A Simão <sup>a,b</sup>, Paulo T. Souza-Santos <sup>c</sup>, Diego S.L. de Oliveira <sup>a</sup>, Vagner Bernardo <sup>b</sup>, Sheila C.S. Lima <sup>b</sup>, Davy C.M. Rapozo <sup>a,b</sup>, Cleber D.P. Kruehl <sup>d</sup>, Paulo A. Faria <sup>e</sup>, Luis F. Ribeiro Pinto <sup>a,b</sup>, Rodolpho M. Albano <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Bioquímica, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup> Divisão de Genética, Coordenação de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>c</sup> Departamento de Biofísica e Biometria, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>d</sup> Hospital de Clínicas de Porto Alegre, PPG-Ciências Cirúrgicas-Famed, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>e</sup> Divisão de Patologia, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brazil

APOIO



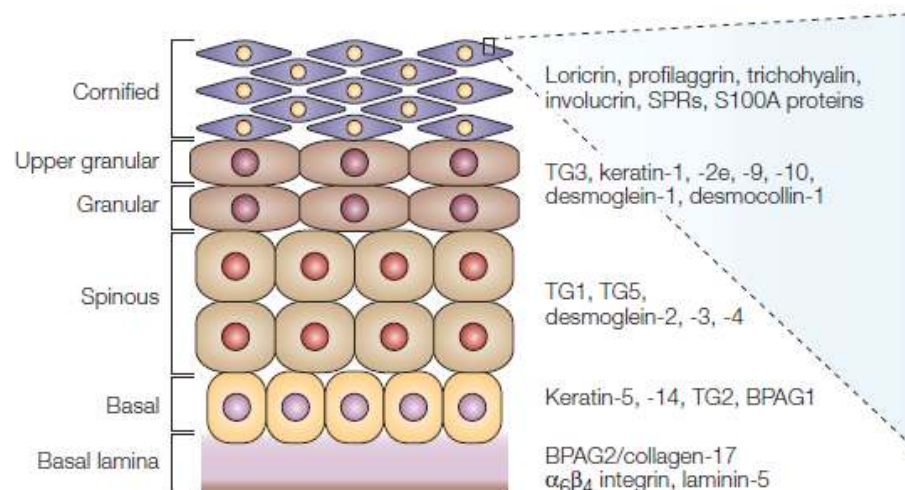
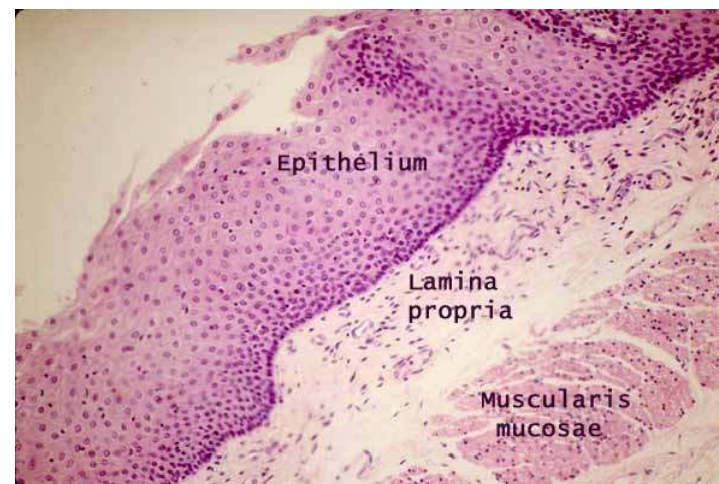
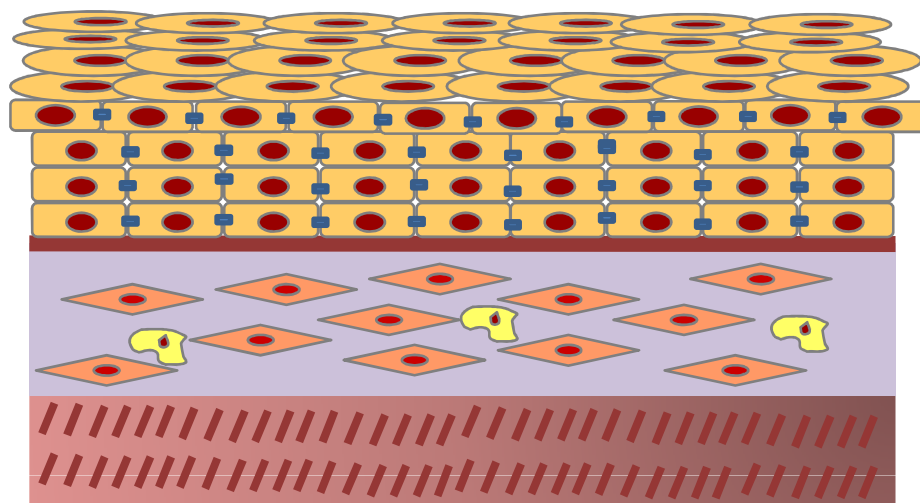
REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA

# O epitélio esofágico



Candi *et al.*, 2005

APOIO



REALIZAÇÃO

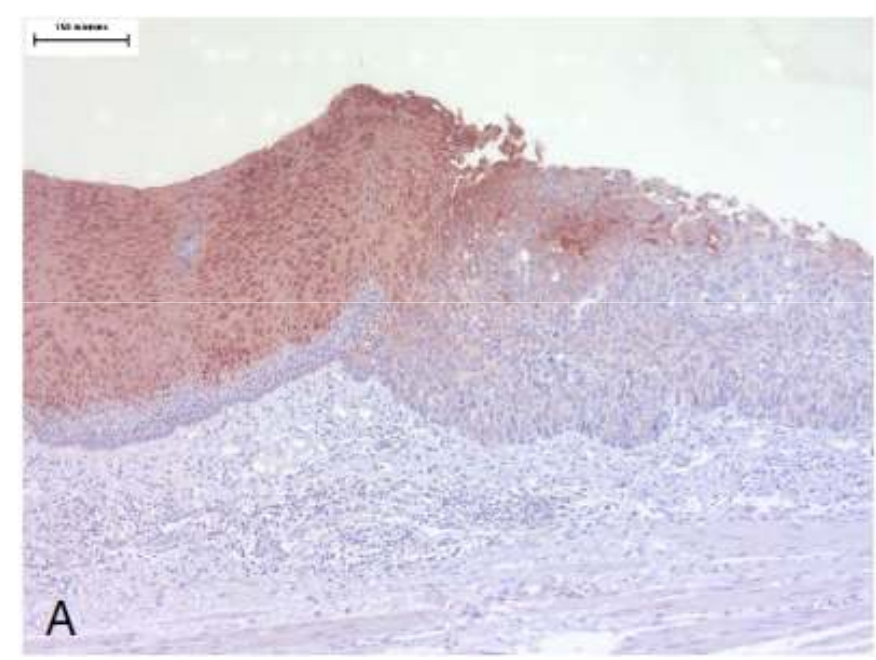
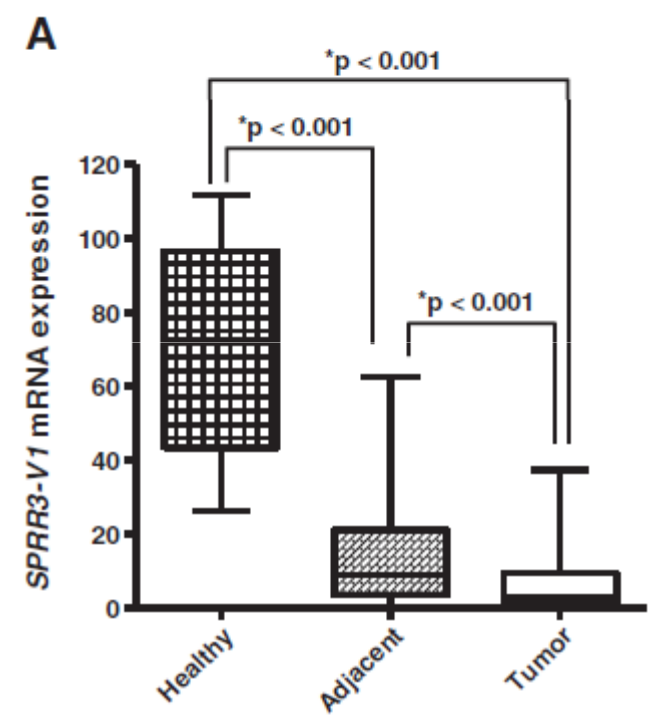


Ministério da Saúde





# Esofagina e CEE





Cancer Letters 326 (2012) 52–58



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Cancer Letters

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/canlet](http://www.elsevier.com/locate/canlet)

## HPV infection in Brazilian patients with esophageal squamous cell carcinoma: Interpopulational differences, lack of correlation with surrogate markers and clinicopathological parameters

Suellen Herbster<sup>a</sup>, Cintia Tereza Lima Ferraro<sup>a</sup>, Natália Kirsch Koff<sup>b</sup>, Ana Rossini<sup>c</sup>, Cleber Dario Pinto Kruel<sup>b</sup>, Nelson Adami Andreollo<sup>d</sup>, Davy Carlos Mendes Rapozo<sup>a</sup>, Tânia Cristina Moita Blanco<sup>c</sup>, Paulo Antonio Silvestre de Faria<sup>e</sup>, Paulo Thiago de Souza Santos<sup>a</sup>, Rodolpho Matos Albano<sup>c</sup>, Tatiana de Almeida Simão<sup>a,c</sup>, Luis Felipe Ribeiro Pinto<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup>Programa de Mecanismos de Carcinogênese Molecular, Coordenação de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup>Hospital de Clínicas de Porto Alegre, PPG-Ciências Cirúrgicas-Famed, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>c</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Gomes, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>d</sup>Departamento de Cirurgia e Gastrocentro, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

<sup>e</sup>Divisão de Patologia, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brazil

APOIO



REALIZAÇÃO

Ministério da  
Saúde

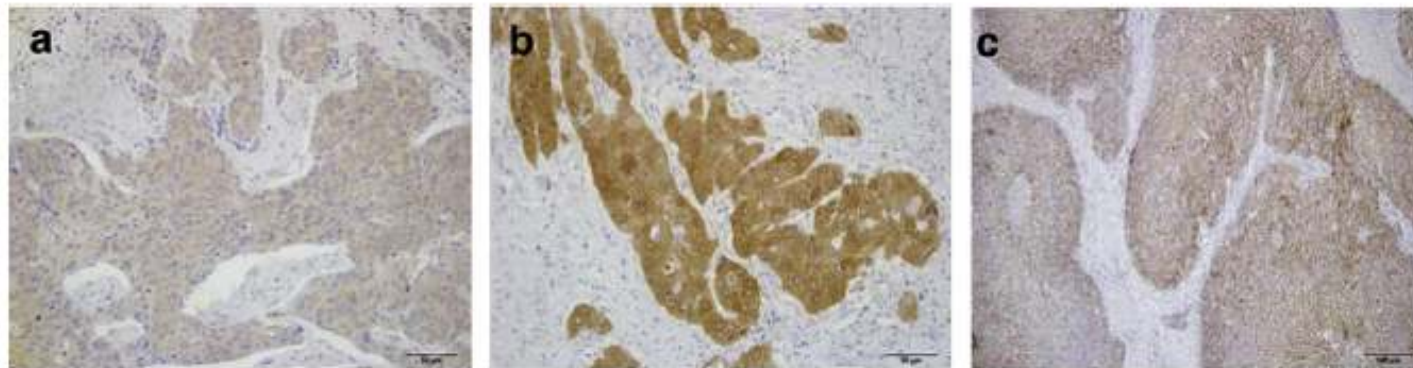
# HPV e CEE

- 13% das amostras estavam infectadas.
- Subtipo mais frequente: HPV16.
- Diferença de 3X na frequência de infecção entre áreas de grande e média incidência.

**Table 2**  
Frequency of TP53 mutations in HPV positive and negative esophageal squamous cell carcinoma samples.

	Wild TP53 n (%)	Mutated TP53 n (%)	p Value
Total n = 166			
HPV negative	90 (69.2%)	44 (32.8%)	0.6774
HPV positive	23 (71.9%)	9 (28.1%)	

Fisher exact test. Differences were considered significant when the value of  $p < 0.05$ .



**Fig. 2.** Expression of p16 in either HPV positive or negative ESCCs. (a and b) HPV positive samples (scale bars 50  $\mu$ m – 20 $\times$ ). (c) HPV negative sample (scale bar 100  $\mu$ m – 10 $\times$ ).



# HPV e CEE

**Table 3**

Association between clinicopathological parameters and the presence of HPV in esophageal squamous cell carcinoma samples.

	HPV positive (n = 34)	HPV negative (n = 230)	p Value
<b>Epidemiological data</b>			
Age (mean ± SD)	60.31 ± 9.92	58.85 ± 10.05	
<b>Gender</b>			
Men	20 (74.1%)	164 (78.5%)	0.62
Women	7 (25.9%)	45 (21.5%)	
<b>Alcohol consumption</b>			
Never	6 (25.0%)	22 (10.8%)	0.091
Ever	18 (75.0%)	181 (89.2%)	
<b>Tobacco consumption</b>			
Never	2 (7.7%)	18 (8.8%)	1.0
Ever	24 (92.3%)	187 (91.2%)	
Mean consumption (packs/years)	35	40	
<b>Clinical data</b>			
<b>Tumor location</b>			
Proximal esophagus	2 (8.7%)	49 (24.5%)	0.018
Middle esophagus	12 (52.2%)	118 (59.0%)	
Distal esophagus	9 (39.1%)	33 (16.5%)	
<b>Tumor differentiation</b>			
Well and moderately	13 (76.5%)	118 (73.8%)	1.0
Poorly	4 (23.5%)	42 (26.2%)	
<b>Tumor stage</b>			
I-II	1 (8.3%)	13 (11.3%)	1.0
III-IV	11 (91.7%)	102 (88.7%)	
<b>Diagnosis of primary tumor in head and neck site</b>			
No	13 (86.7%)	52 (73.2%)	0.34
Yes	2 (13.3%)	19 (27.5%)	
<b>Overall survival</b>			
>12 Months	3 (25.0%)	27 (27.6%)	
<12 Months	9 (75.0%)	71 (72.4%)	

The statistical test used in tumor location data analysis was Chi-square test, whereas the Student's *t* test was used to evaluate the variables age and overall survival. Fisher's exact test was applied to the other variables. Differences were considered significant when the value of  $p < 0.05$ .

Gonzaga *et al.* *BMC Cancer* 2012, **12**:569  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2407/12/569>



RESEARCH ARTICLE

Open Access

# Alterations in epidermal growth factor receptors 1 and 2 in esophageal squamous cell carcinomas

Isabela Martins Gonzaga<sup>1</sup>, Sheila Coelho Soares-Lima<sup>1</sup>, Paulo Thiago Souza de Santos<sup>1</sup>, Tania Cristina Moita Blanco<sup>2</sup>, Bruno Souza Bianchi de Reis<sup>3</sup>, Danielle Carvalho Quintella<sup>3</sup>, Ivanir Martins de Oliveira<sup>3</sup>, Paulo Antonio Silvestre de Faria<sup>3</sup>, Cleber Dario Pinto Kruel<sup>4</sup>, Nelson Adami Andreollo<sup>5</sup>, Tatiana Almeida de Simão<sup>1,2</sup> and Luis Felipe Ribeiro Pinto<sup>1,2\*</sup>

APOIO



REALIZAÇÃO

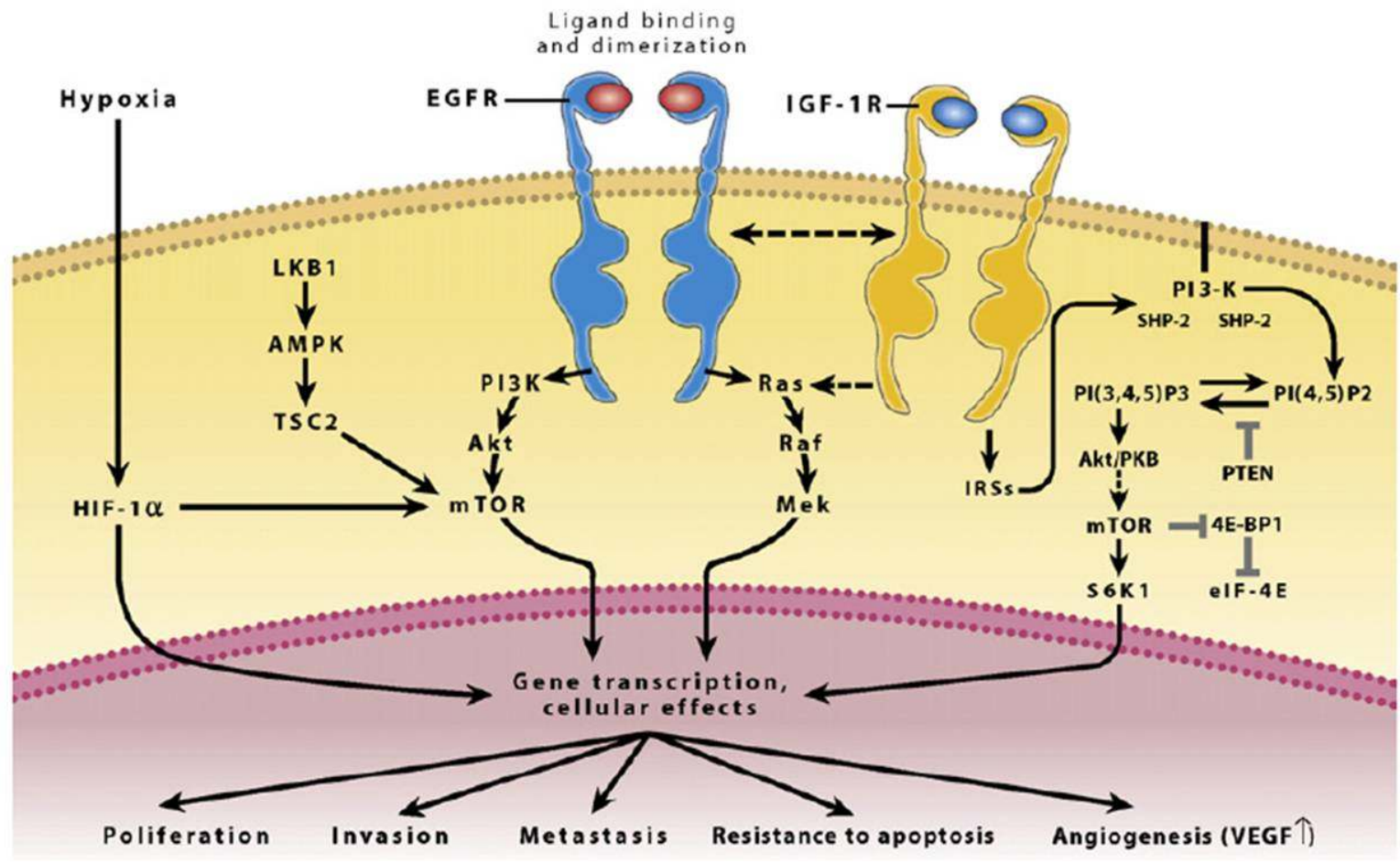


Ministério da  
Saúde

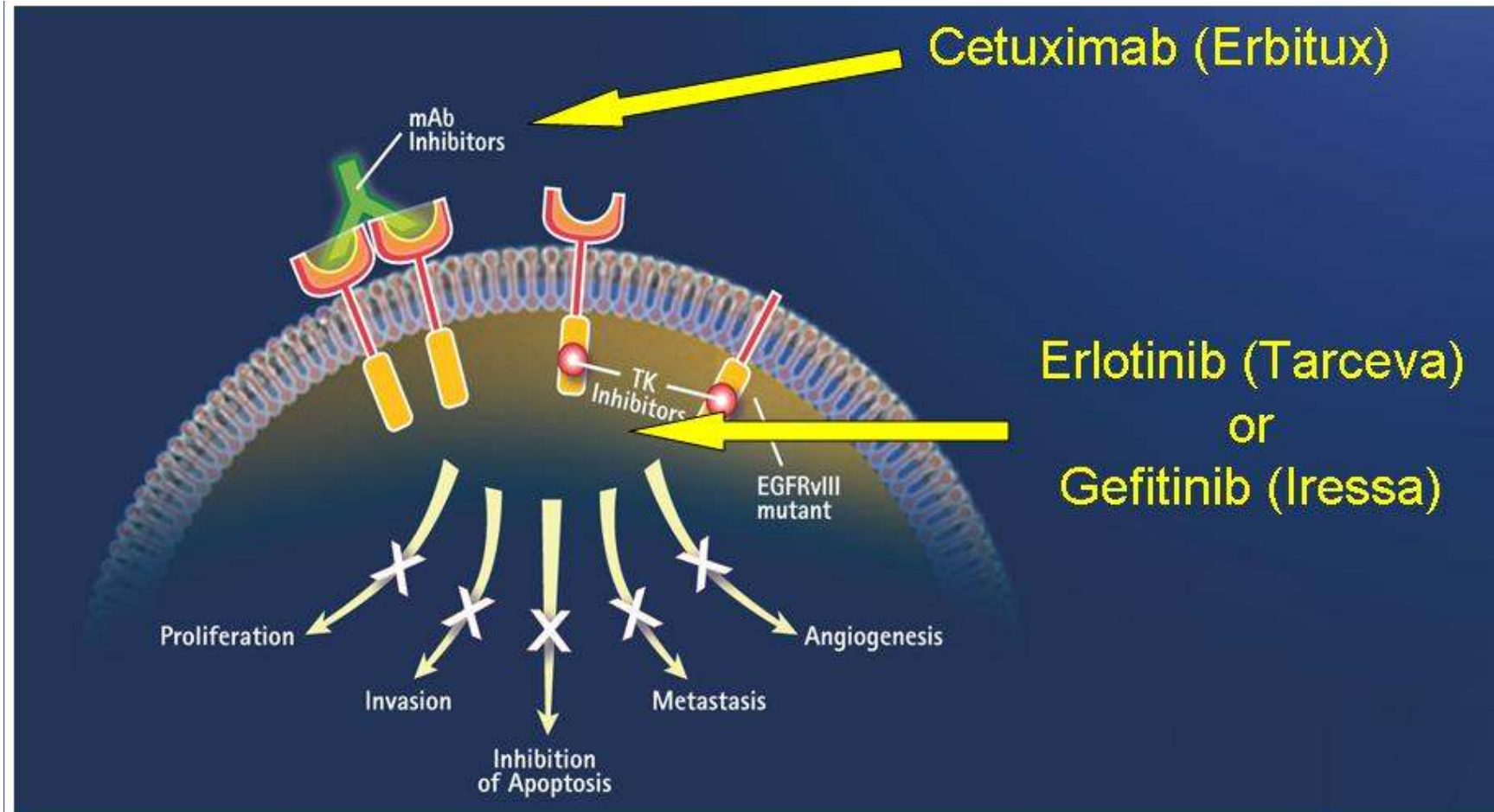
GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA



# Via de sinalização mediada por EGF



# Terapia anti-EGFR



APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da Saúde







## ➤ O que foi avaliado:

- Expressão gênica e proteica de EGFR e HER2;
- Possíveis mutações em EGFR;
- Possíveis mutações em BRAF;





Cell Cycle 11:24, 1–9; December 15, 2012; © 2012 Landes Bioscience

# Transcriptional regulation of thymine DNA glycosylase (TDG) by the tumor suppressor protein p53

Nathalia Meireles da Costa,<sup>1,2,6</sup> Agnès Hautefeuille,<sup>2</sup> Marie-Pierre Cros,<sup>2</sup> Matias Eliseo Melendez,<sup>3</sup> Timothy Waters,<sup>4</sup> Peter Swann,<sup>4</sup> Pierre Hainaut<sup>2,5,\*</sup> and Luis Felipe Ribeiro Pinto<sup>1,6</sup>

APOIO



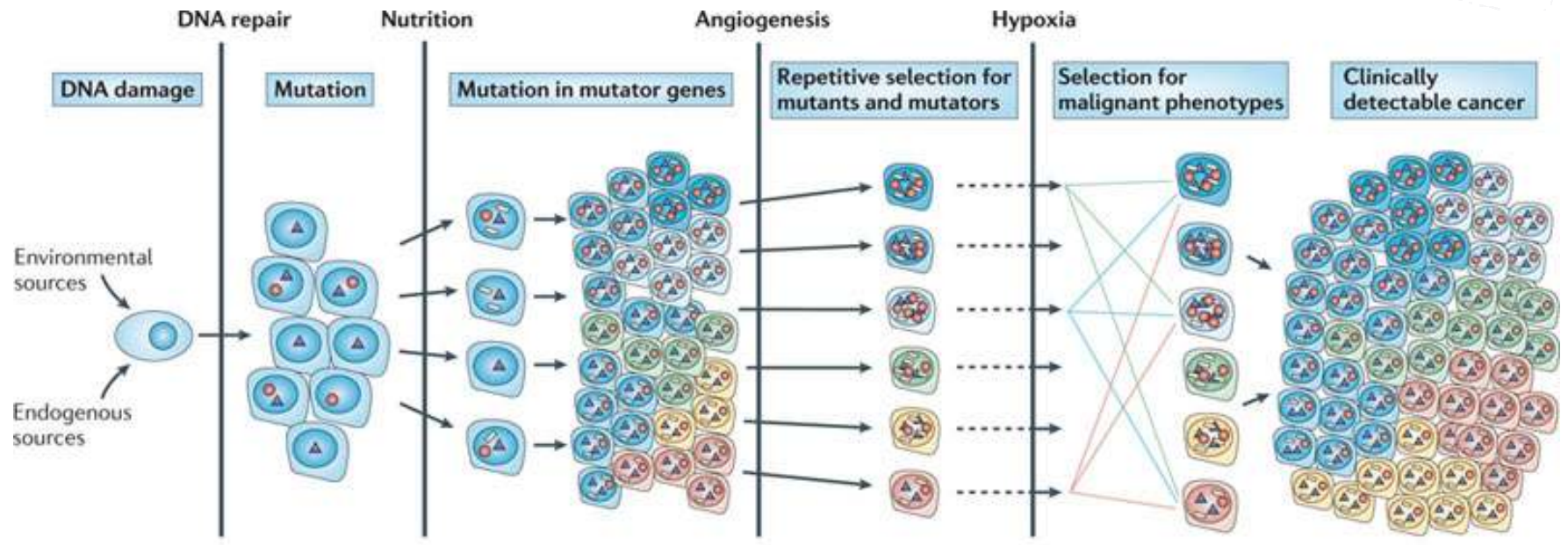
REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

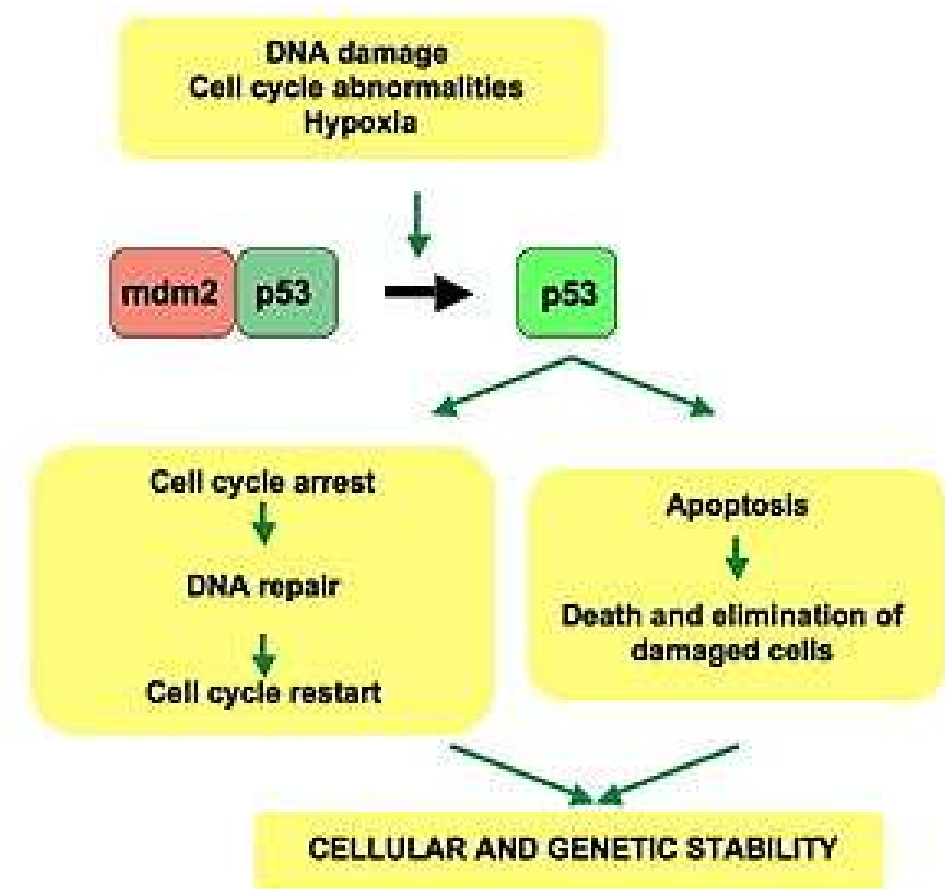
# O fenótipo mutador



Nature Reviews | Cancer

Loeb, 2011

# O gene supressor de tumor *TP53*



# TP53 e o fenótipo mutador



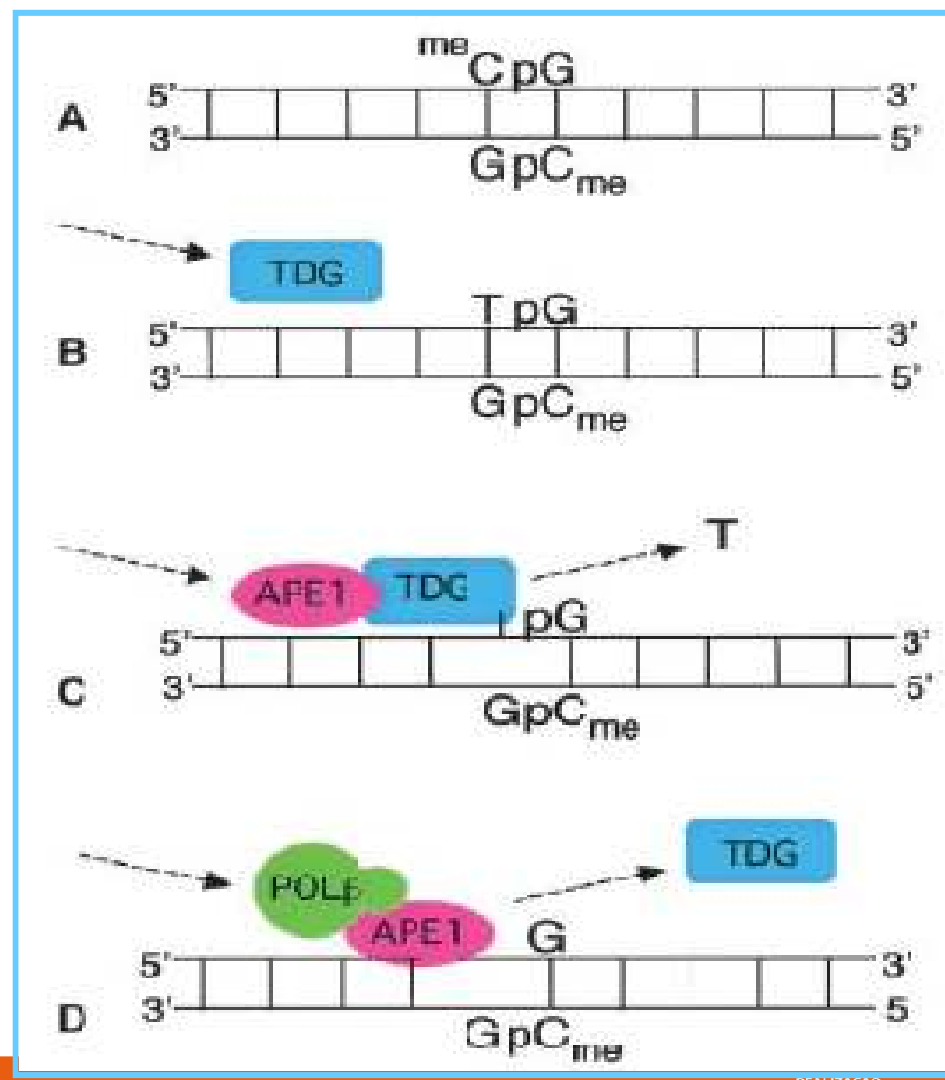
↑ Frequência de mutações

GC -----> AT  
CpG

~ 23% das mutações em  
doenças hereditárias

~ 24% das mutações em TP53

# Timina DNA Glicosilase (TDG)



# O fenótipo mutador

TP53



Expressão normal de TDG



Estabilidade genômica



~~TP53~~



↓  
Expressão de TDG



GC -----> AT  
CpG





# Identification of a DNA methylome signature of esophageal squamous cell carcinoma and potential epigenetic biomarkers

Sheila C.S. Lima,<sup>1,2,†</sup> Hector Hernandez-Vargas,<sup>1,†</sup> Tatiana Simão,<sup>2,3</sup> Geoffroy Durand,<sup>1</sup> Cleber Dario Pinto Kruehl,<sup>4</sup> Florence Le Calvez-Kelm,<sup>1</sup> Luis Felipe Ribeiro Pinto<sup>2,3</sup> and Zdenko Herceg<sup>1,\*</sup>

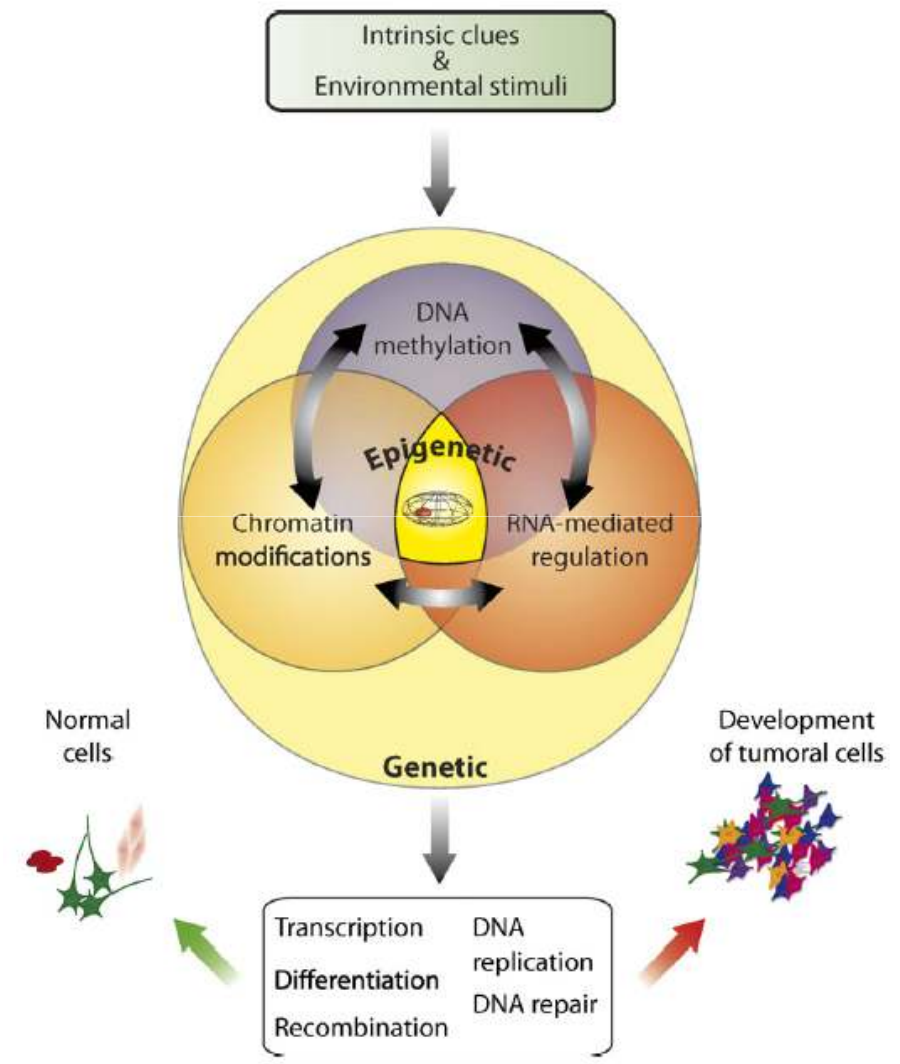
APOIO



REALIZAÇÃO

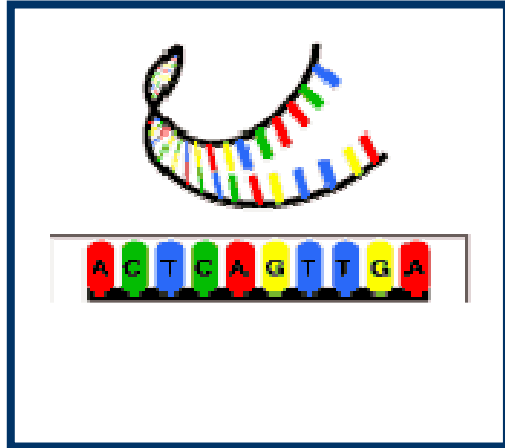
Ministério da  
Saúde

# ➤ Possíveis mecanismos de carcinogênese



Sawan *et al.*, 2008.

## ➤ Alterações genéticas em CEE



- Mutações: *p53*.
- Polimorfismos: *p21*, *GSTs*.

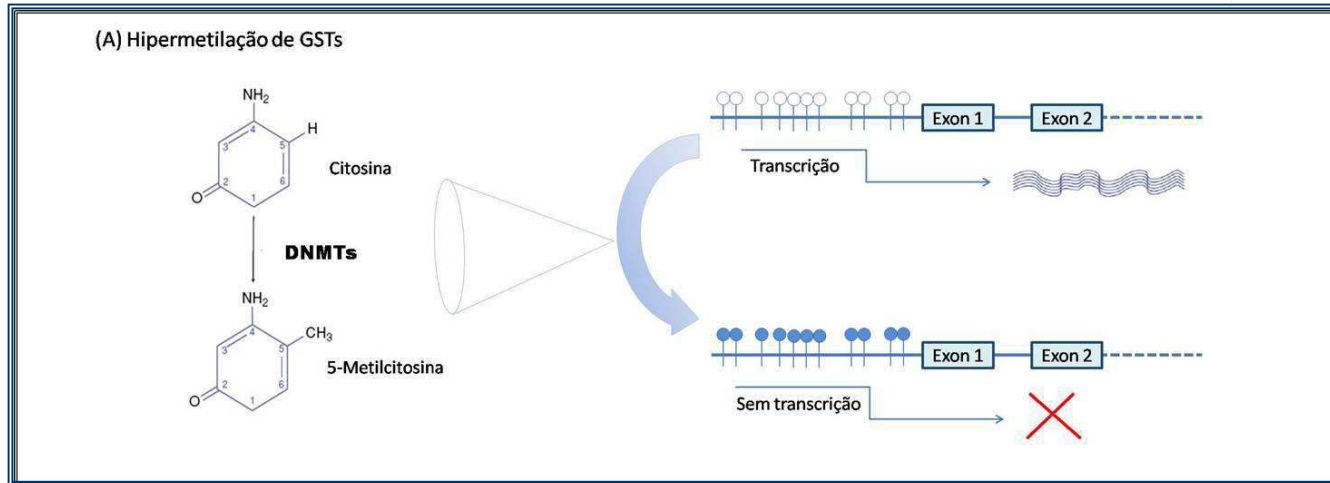
- Alterações da expressão gênica

↑ *Ciclina D1*, *EGFR*.

↓ *pRb*, *p16<sup>INK4a</sup>*.

Tsuruta *et al.*, 1993; Maesawa *et al.*, 1996; Xing *et al.*, 1999; Bahl *et al.*, 2000; Hanawa *et al.*, 2006; Rossini *et al.*, 2007; Rossini *et al.*, 2010.

# ➤ Alterações epigenéticas em CEE



***p16<sup>INK4a</sup>***

***MGMT***

***p14<sup>ARF</sup>***

***hMLH1***

***FHIT***

***hMSH2***

***RAR-β***

***CDH1***

***RASSF1A***

***RUNX3***

Tzao *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 2006; Wong *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2007;  
Wang *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009.

APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde



## ➤ Objetivo geral

Qual o perfil de metilação em CEE?



Array: análise randômica e em larga escala



Perfil tumor-específico

Alterações precoces



Ensaio funcionais em linhagens celulares

## ➤ Metodologia

- Indivíduos incluídos no estudo

	Pacientes com CEE	Controles
Número total	108	29
Sexo		
Homens	80 (74%)	10 (34.5%)
Mulheres	28 (26%)	19 (65.5%)
Idade	59.7 ± 10.1	56 ± 13.3
Variação	34-88	23-73
Tabagismo		
Nunca	10 (10.3%)	16 (55.2%)
Fumantes e ex-fumantes	87 (89.7%)	13 (44.8%)
Etilismo		
Nunca	13 (13.7%)	15 (51.7%)
Etilistas ou ex-etilistas	82 (86.3%)	14 (48.3%)
Diferenciação do tumor		
Bem	4 (5.6%)	
Moderadamente	45 (62.5%)	
Pouco	18 (25%)	
Indiferenciado	5 (6.9%)	

## ➤ Metodologia

### Visão global do estudo

10 pacientes com CEE { Tecido normal adjacente  
Tumor

4 mucosas esofágicas de indivíduos saudáveis



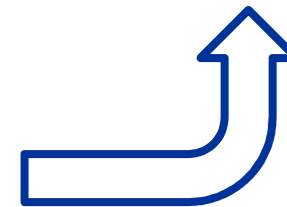
Illumina GoldenGate



Perfil tumor-específico

Alterações precoces

Validação por pirosequenciamento



APOIO



REALIZAÇÃO



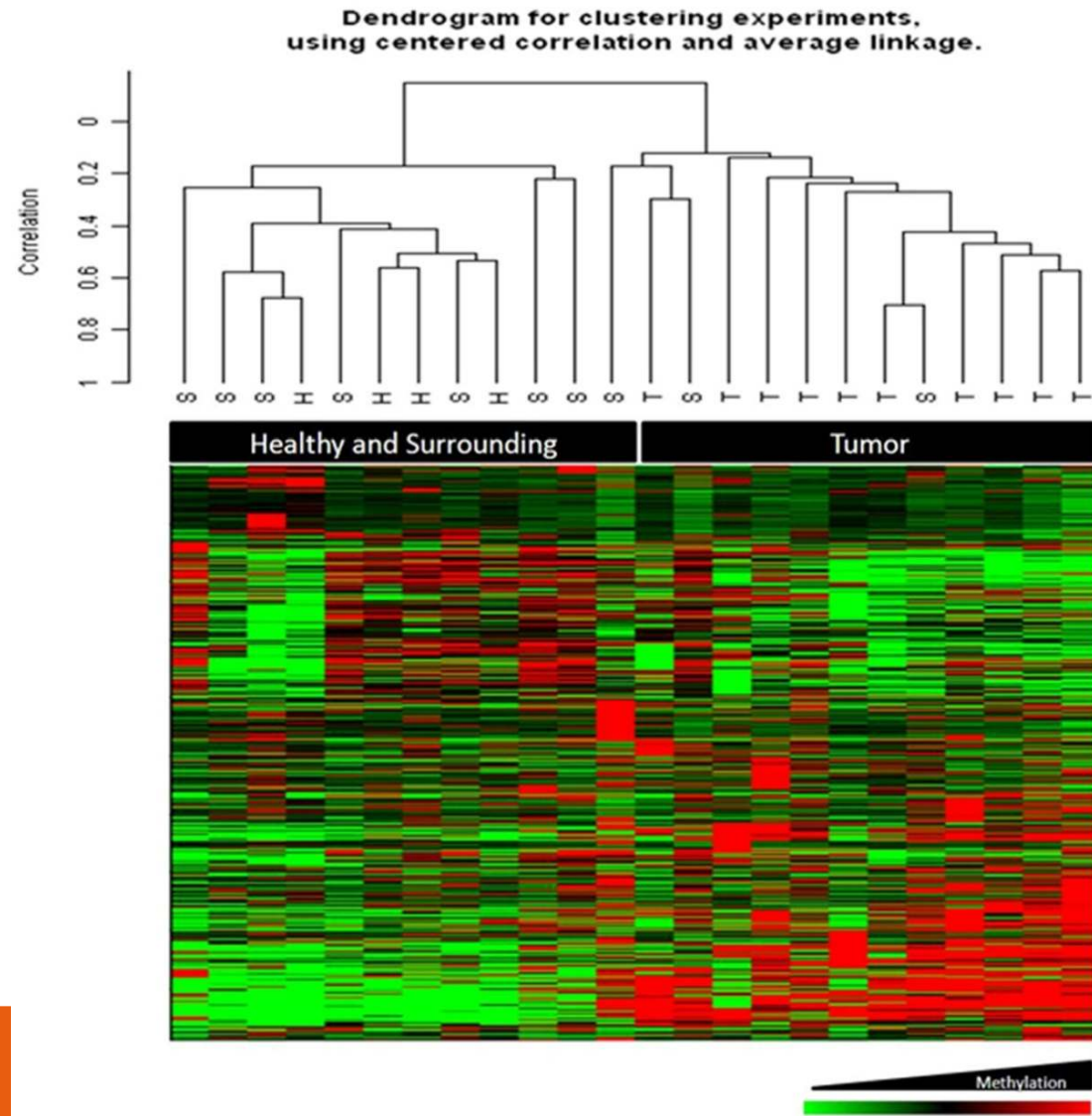
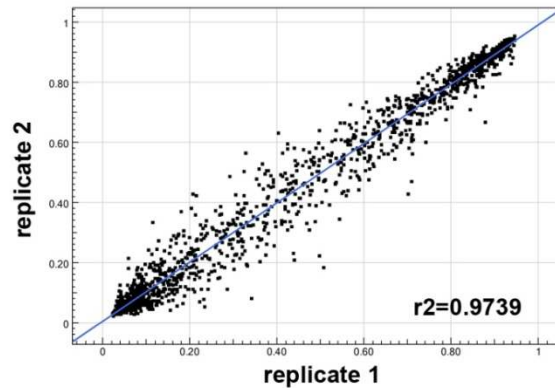
Ministério da Saúde





# ➤ Resultados

## Análise não-supervisionada

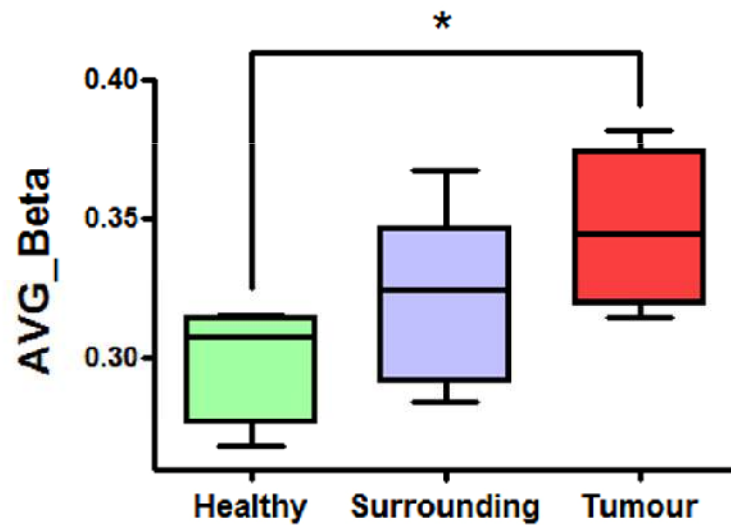


➤ O perfil de metilação foi capaz de discriminar tumores e não-tumores.

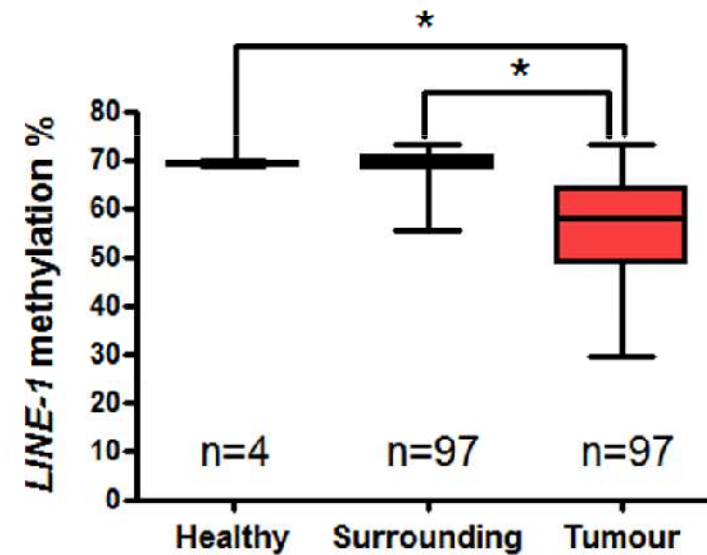
➤ Resultados

# Metilação de promotores X Metilação global

Promotores



Elementos repetitivos

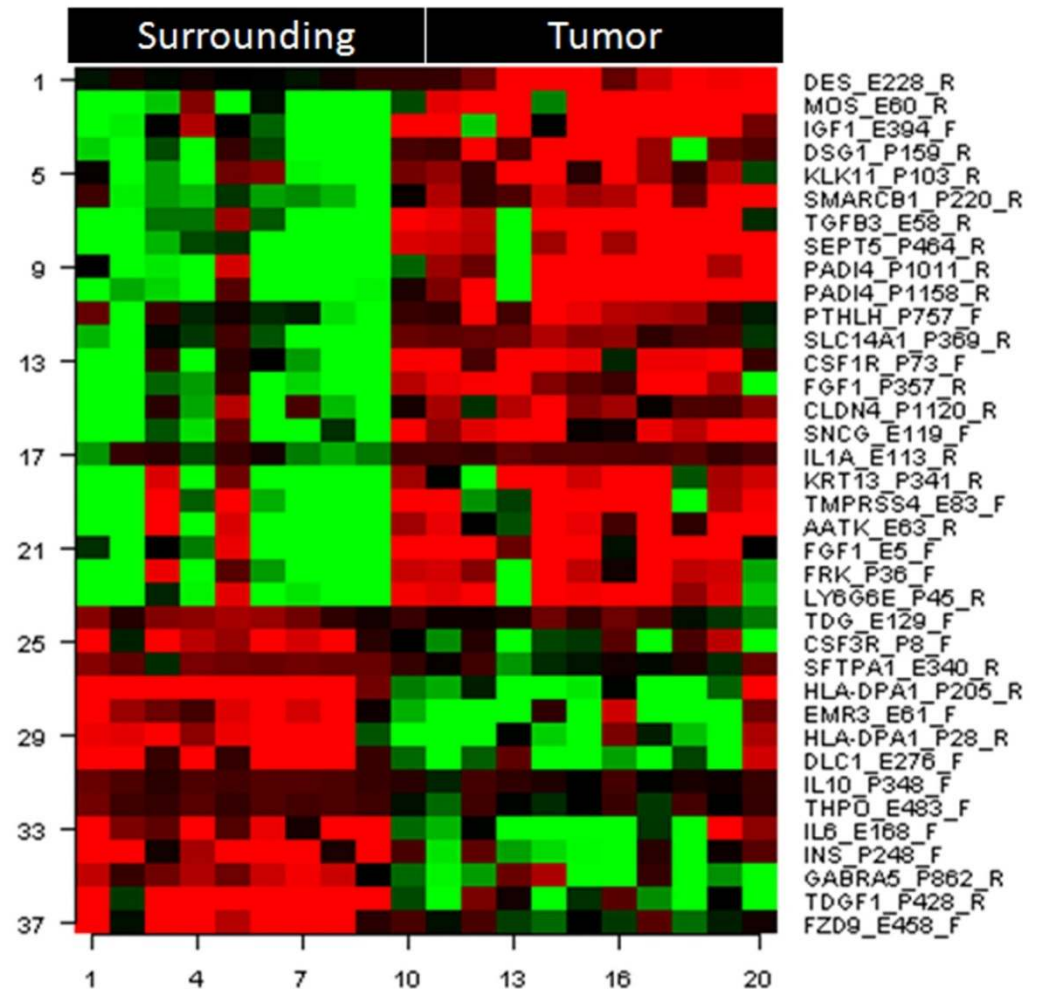


➤ CEE apresenta um aumento geral na metilação de promotores, assim como uma hipometilação global. \* p<0,05

➤ Resultados

Tumor X  
Normal adjacente

Análise pareada  
 $p < 0,005$   
 $FDR < 0,2$



➤ Tumores apresentam um perfil de metilação único em comparação ao tecido normal adjacente.



APOIO



REALIZAÇÃO

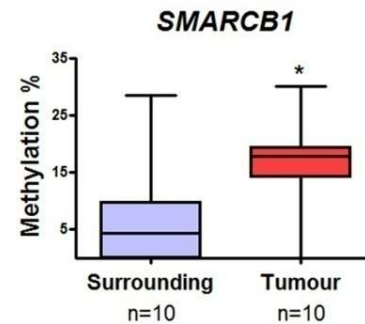
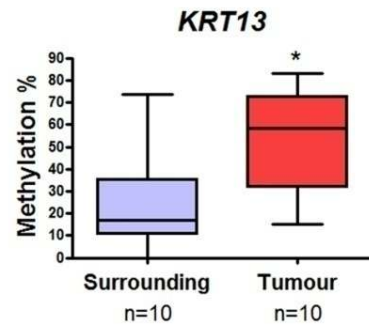
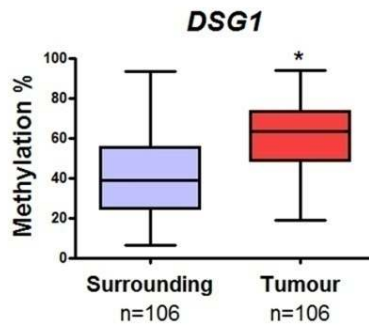
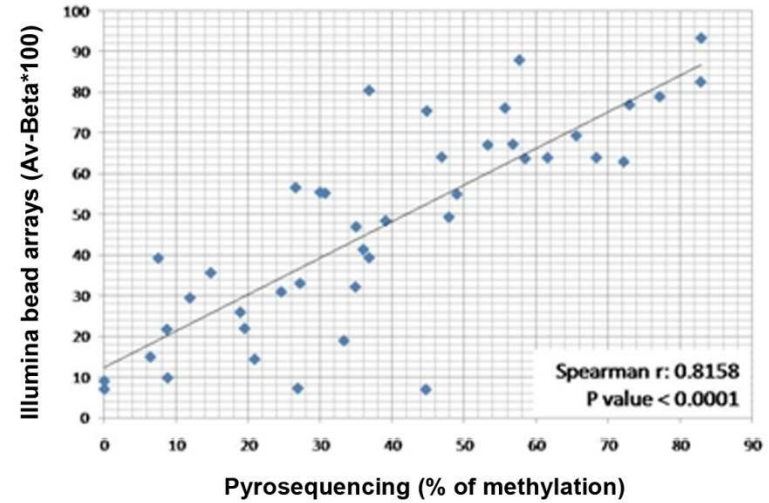
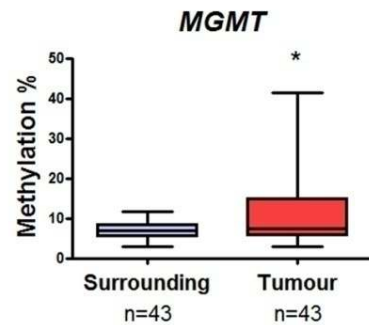
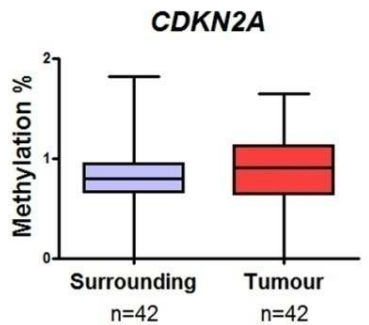
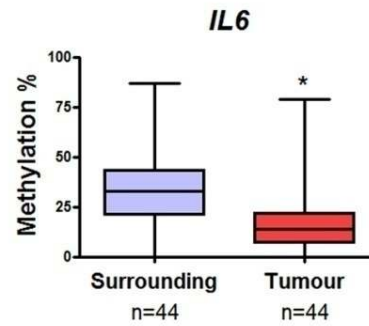
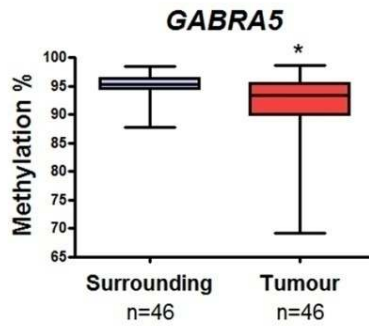


Ministério da Saúde



# Resultados

## Validação por pirosequenciamento



\* p < 0,05

APOIO



Ministério da Saúde

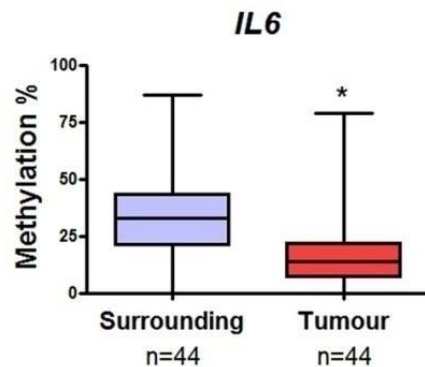


# Resultados

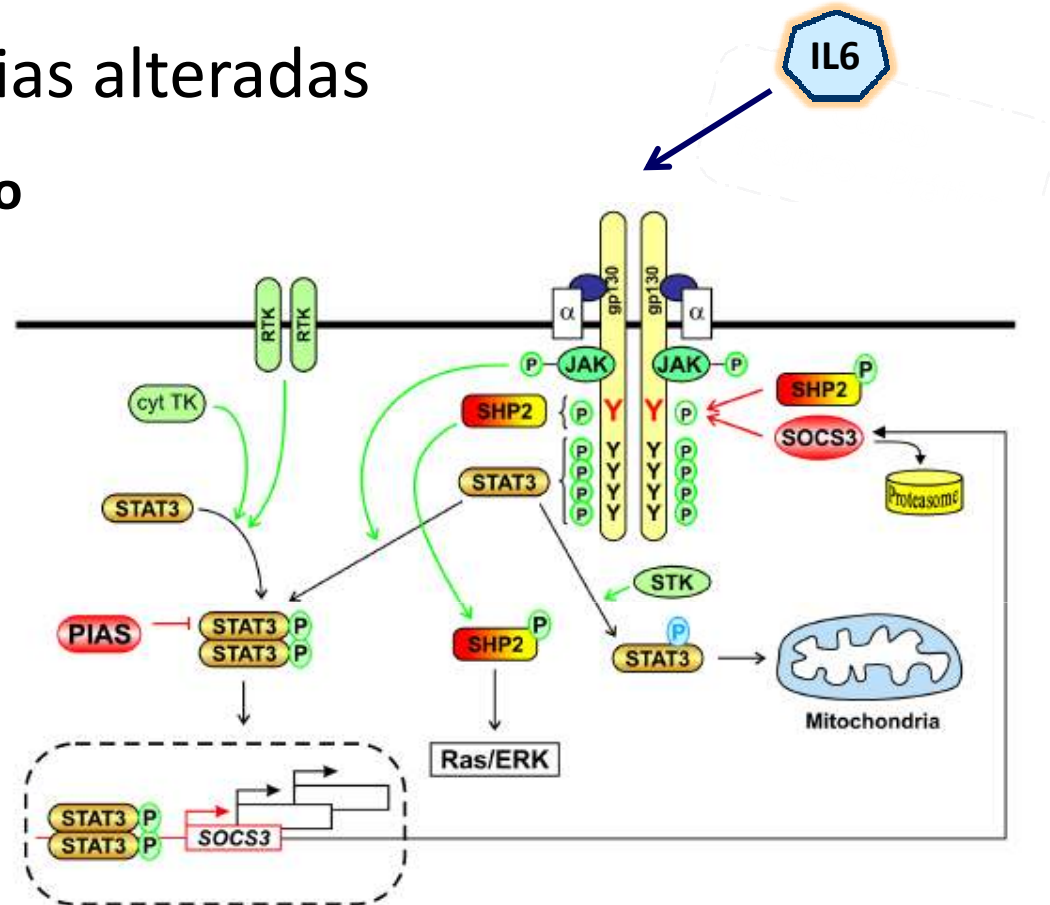
## Vias alteradas

### BioCarta Pathways: Inflamação

Análise pareada  
 $p < 0,005$  em pelo  
 menos um dos  
 testes avaliados.



Jamicki *et al.*, 2010.



Survival	Proliferation	Angiogenesis	Metastasis	Cell Adhesion	Inflammation	Signalling
Bcl-X <sub>L</sub>	c-Myc	HIF1 $\alpha$	MMP2	ICAM-1	IL6	STAT3
Bcl-2	Cyclin D1	VEGF	MMP9	TWIST1	IL11	SOCS3
Mcl-1	Cyclin B	FGF2			IL17	Lin28
Survivin	Cdc2				IL23	
Hsp 70/90	c-Jun				CXCL12	
RegIII $\beta/\gamma$	c-Fos				IL10	
	p21				Cox2	

Figure 2



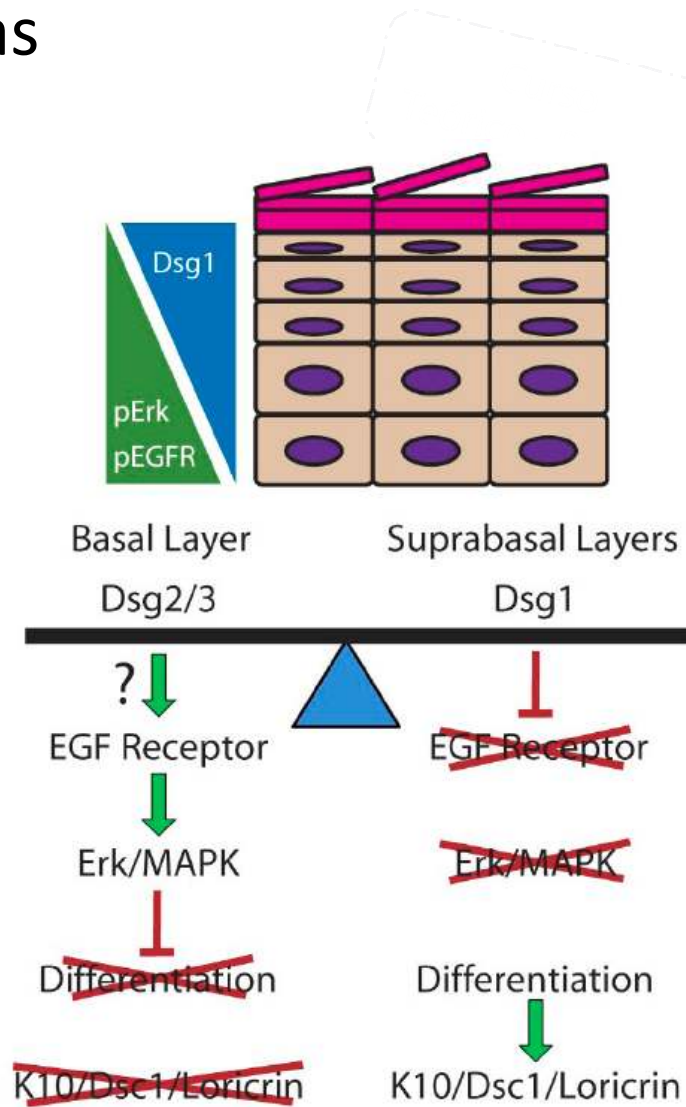
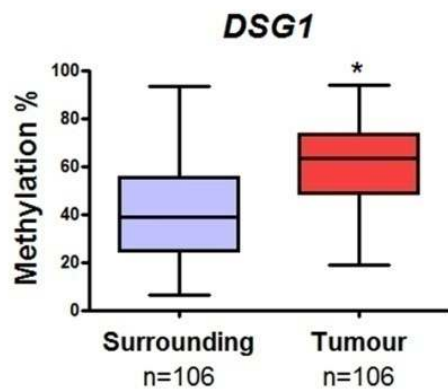
# ➤ Resultados

## Vias alteradas

### KEGG Pathways: Comunicação celular

Análise pareada  
 $p < 0,005$  em pelo menos um dos testes avaliados.

#### Desmogleína 1 (DSG1)



Getsios *et al.*, 2009. ~~K10/Dsc1/Loricrin~~



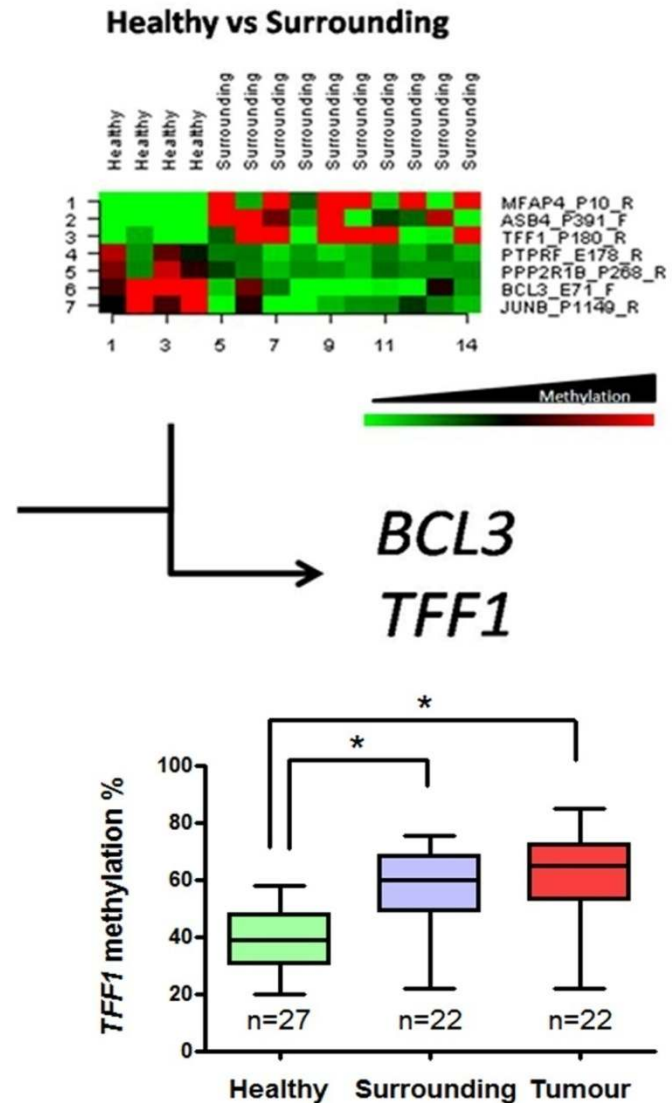
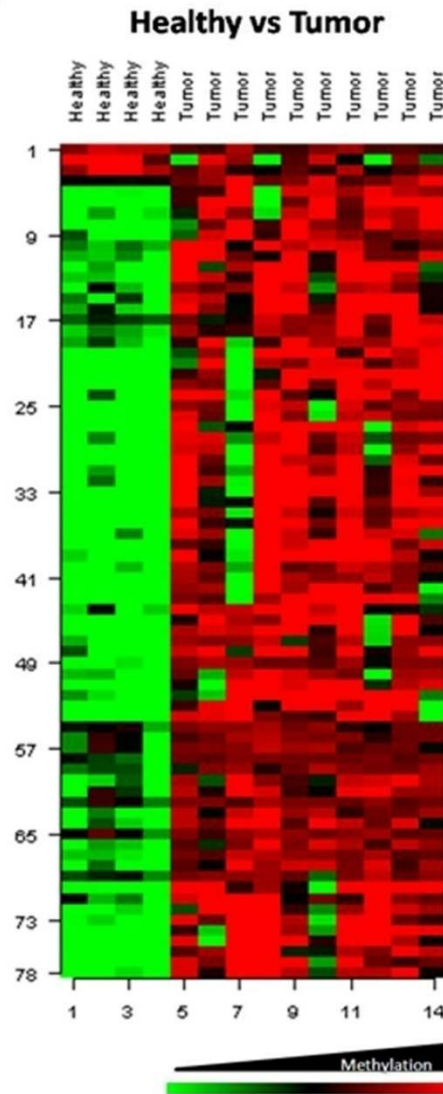
## ❖ Projeto DSG1 (Marcela Costa)

- Avaliar a expressão de DSG1 em CEE.
- Avaliar os efeitos da superexpressão e do silenciamento de DSG1 em linhagens celulares.

## ➤ Resultados

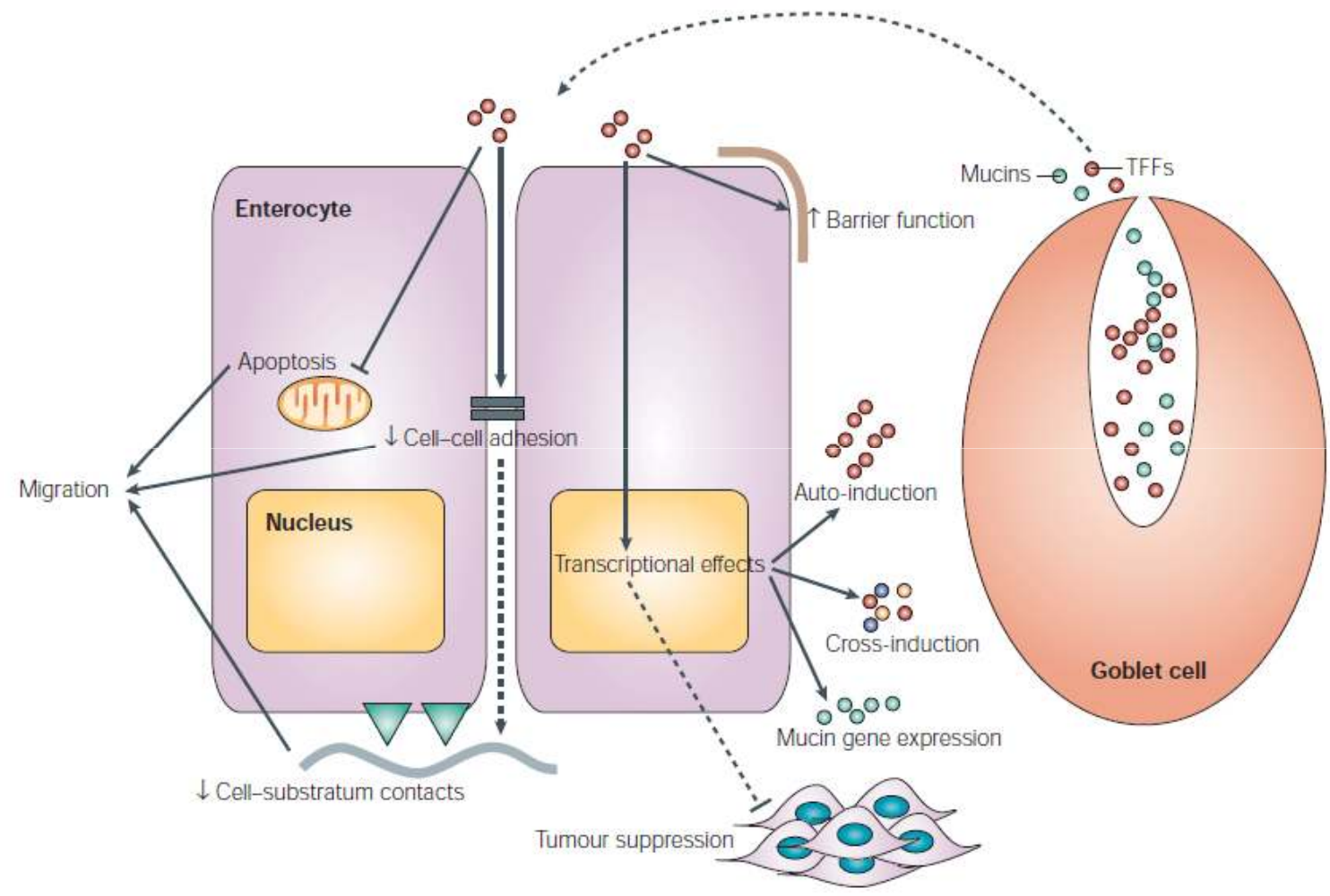
Busca por marcadores precoces

➤ A hipometilação de *BCL3* e a hipermetilação de *TFF1* podem representar eventos epigenéticos precoces que precedem e promovem o desenvolvimento de CEE.



\*  $p < 0,05$

# TFFs: protetores de mucosas



Taupin e Podolsky, 2003.

# Qual o perfil de metilação em CEE?



Array: análise randômica e em larga escala



Perfil tumor-específico

*DSG1*

*IL6*

Alterações precoces

*TFF1*

*BCL3*

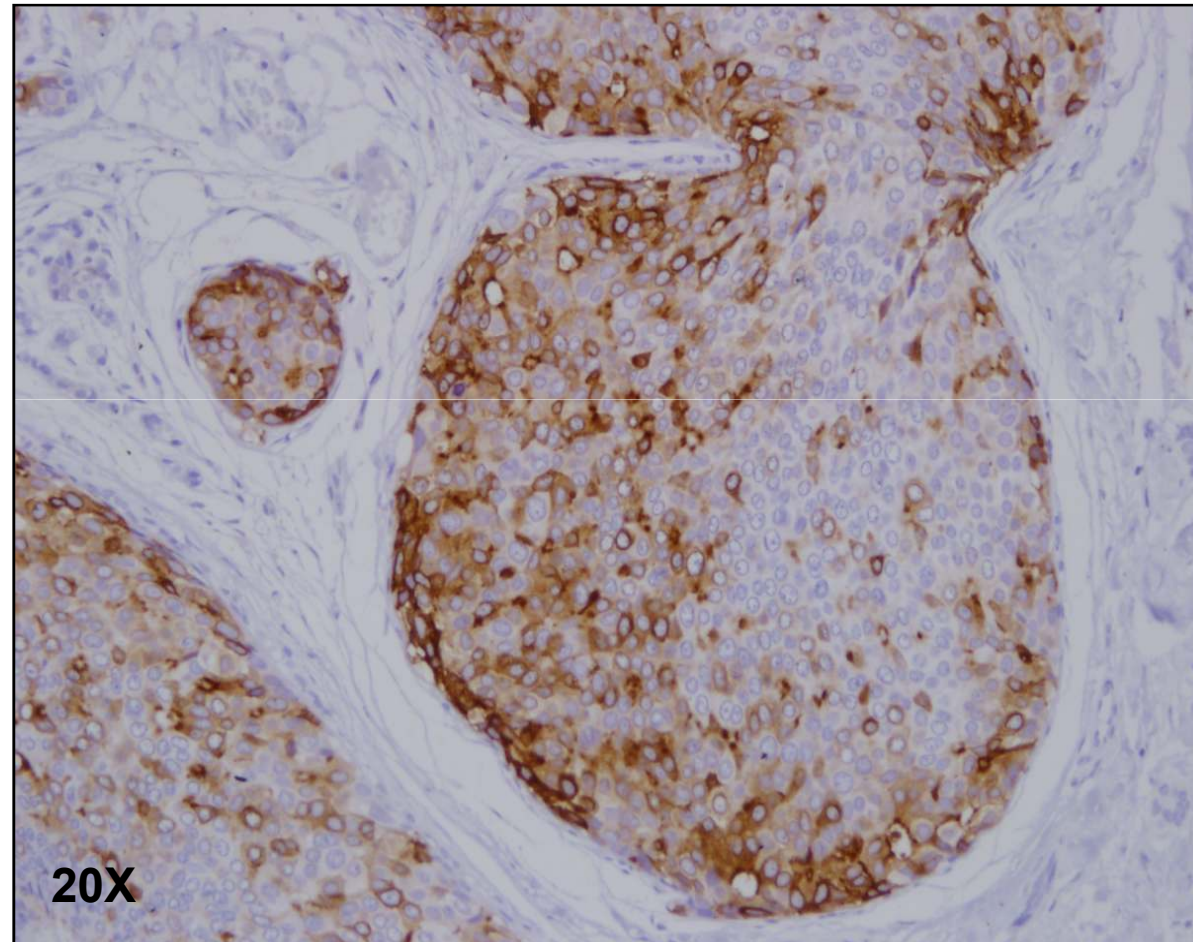
Busca por Biomarcadores

## ❖ Projeto TFF1 e BCL3 (Isabela Gonzaga)

- Avaliar a expressão de TFF1 e BCL3 em CEE, correlacionando com o perfil de metilação.
- Avaliar a expressão de TFF1 e BCL3 em tumores de cabeça e pescoço.



# IMUNO-HISTOQUÍMICA TFF1 – CONTROLE POSITIVO (Carcinoma de Mama)



APOIO



REALIZAÇÃO

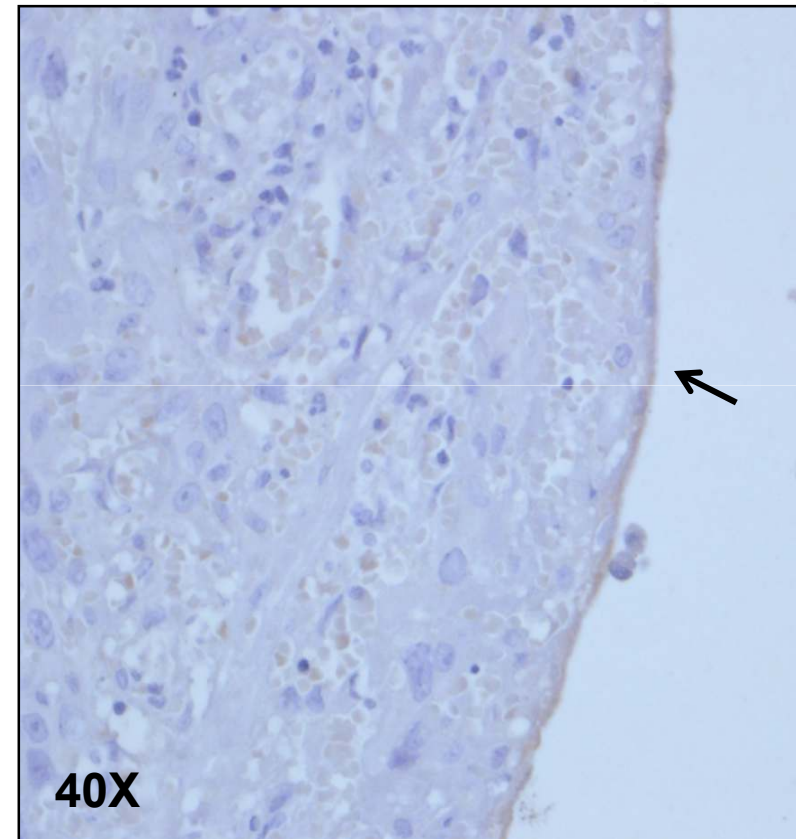
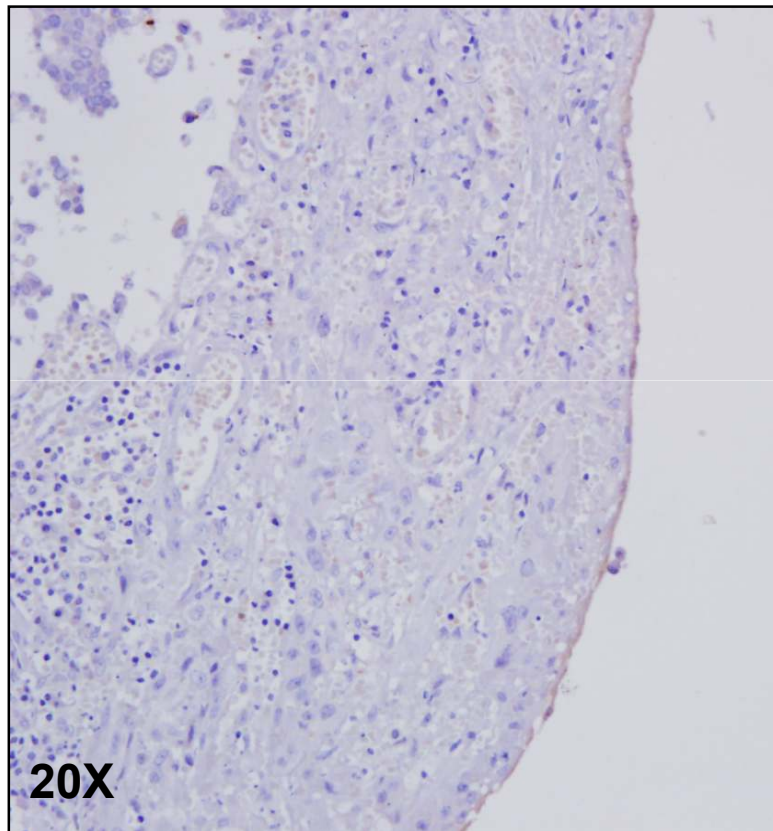


Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA



# IMUNO-HISTOQUÍMICA TFF1 - CEE



APOIO



REALIZAÇÃO



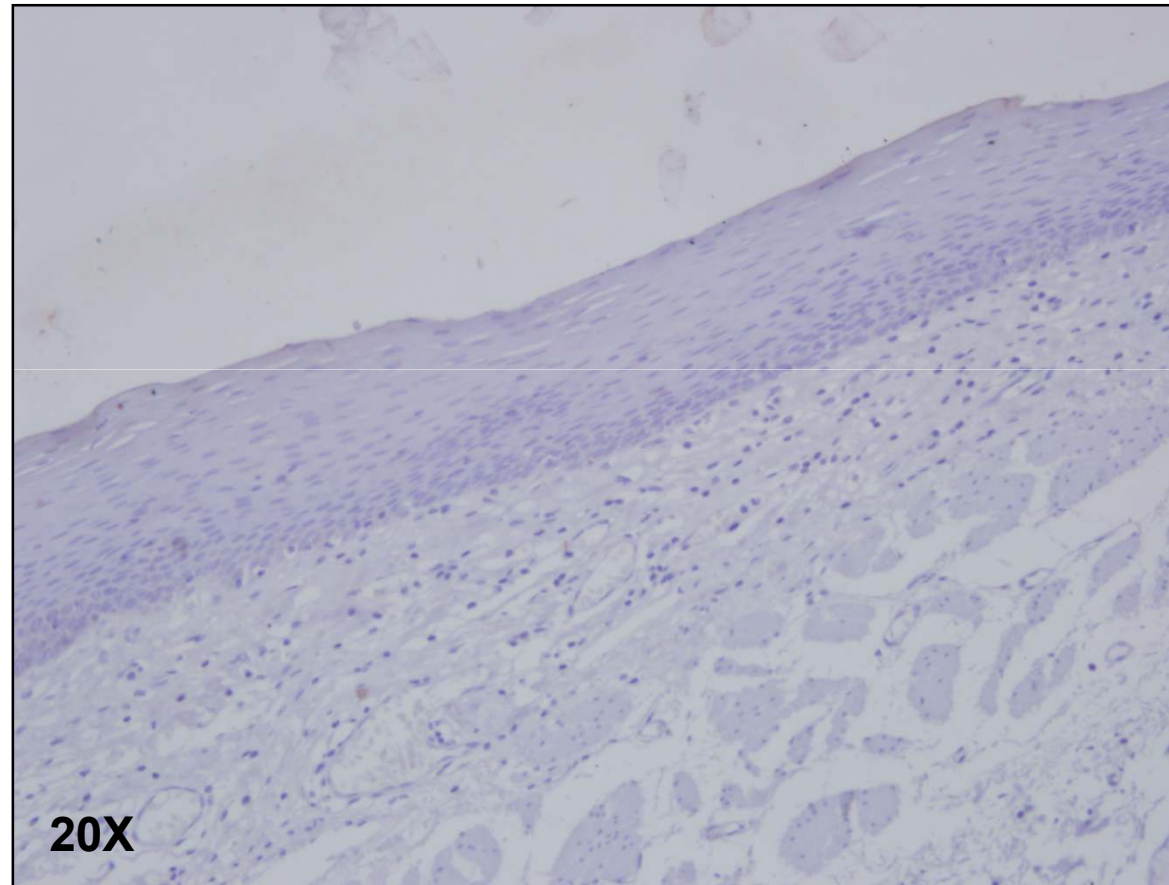
Ministério da Saúde







# IMUNO-HISTOQUÍMICA TFF1 – Mucosa Normal Adjacente



20X

APOIO



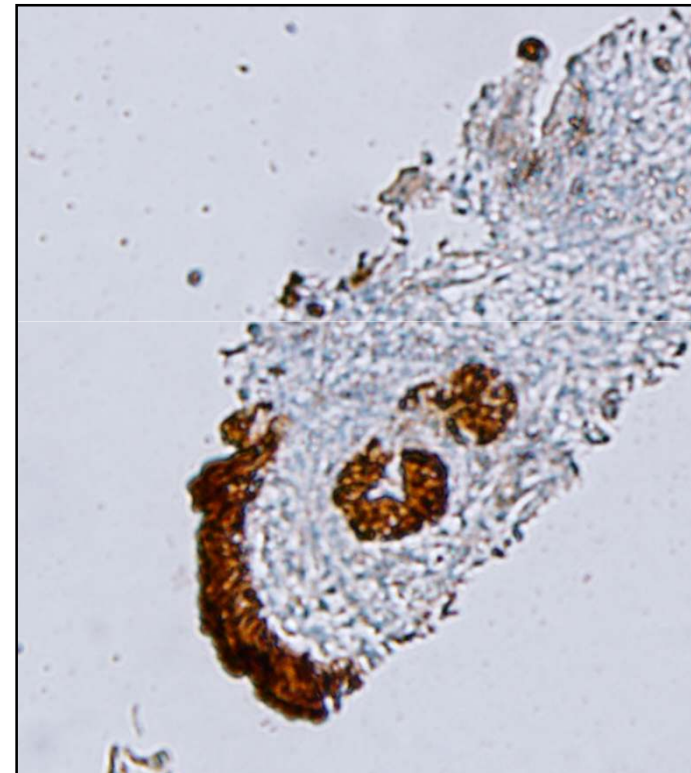
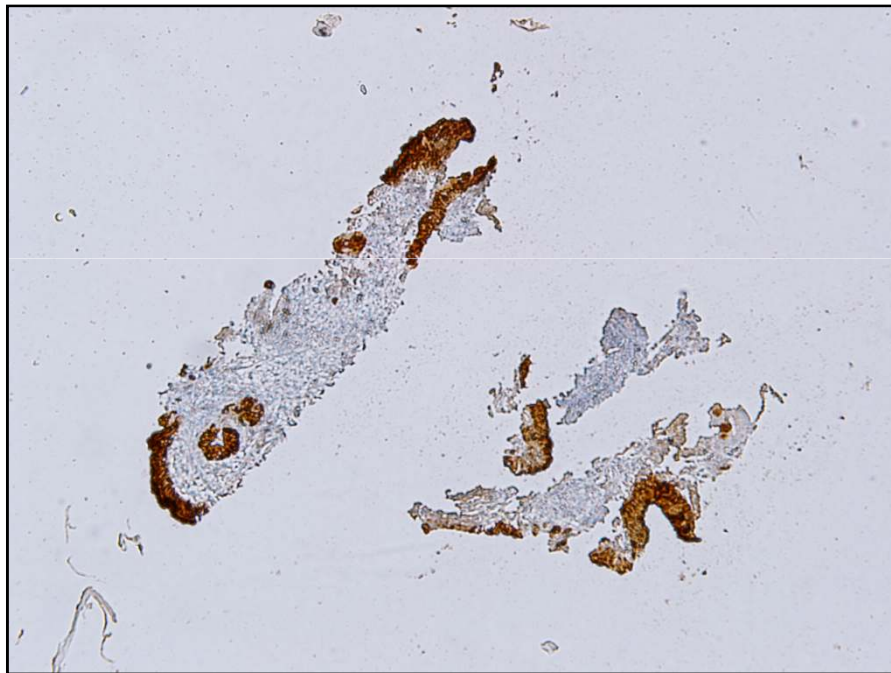
REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

# IMUNOHISTOQUÍMICA TFF1 – Mucosa Saudável



Qual o perfil de metilação em CEE?



Array: análise randômica e em larga escala



Perfil tumor-específico

Alterações precoces

*DSG1*

*TFF1*

*IL6*

*BCL3*

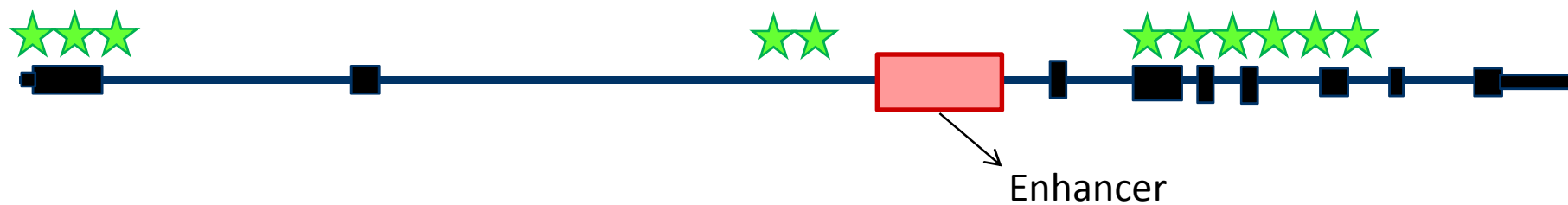
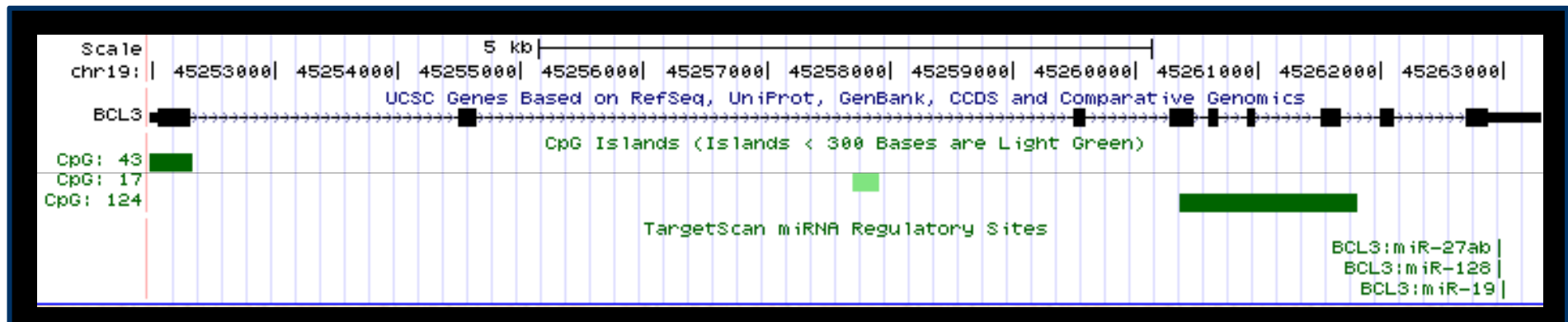


Ensaio funcionais em linhagens celulares

## BCL3: um membro diferenciado da família IκB

- A família IκB é composta por inibidores da atividade de NF-κB, importantes ativadores da transcrição gênica (Thornburg *et al.*, 2003).
- Os fatores de transcrição NF-κB regulam uma vasta gama de processos fisiológicos e patológicos, como inflamação, sistema imune, sobrevivência celular e proliferação (Ghosh e Karin, 2002).
- Os dímeros p50 e p52 não são capazes de promover a transcrição gênica sozinhos (Fujita *et al.*, 1993; Watanabe *et al.*, 1997).
- O BCL3 é um membro diferenciado da família IκB por atuar como co-ativador da transcrição gênica em conjunto com dímeros p50 e p52 (Bours *et al.*, 1993).

# Localização e organização do *BCL3*



APOIO



REALIZAÇÃO

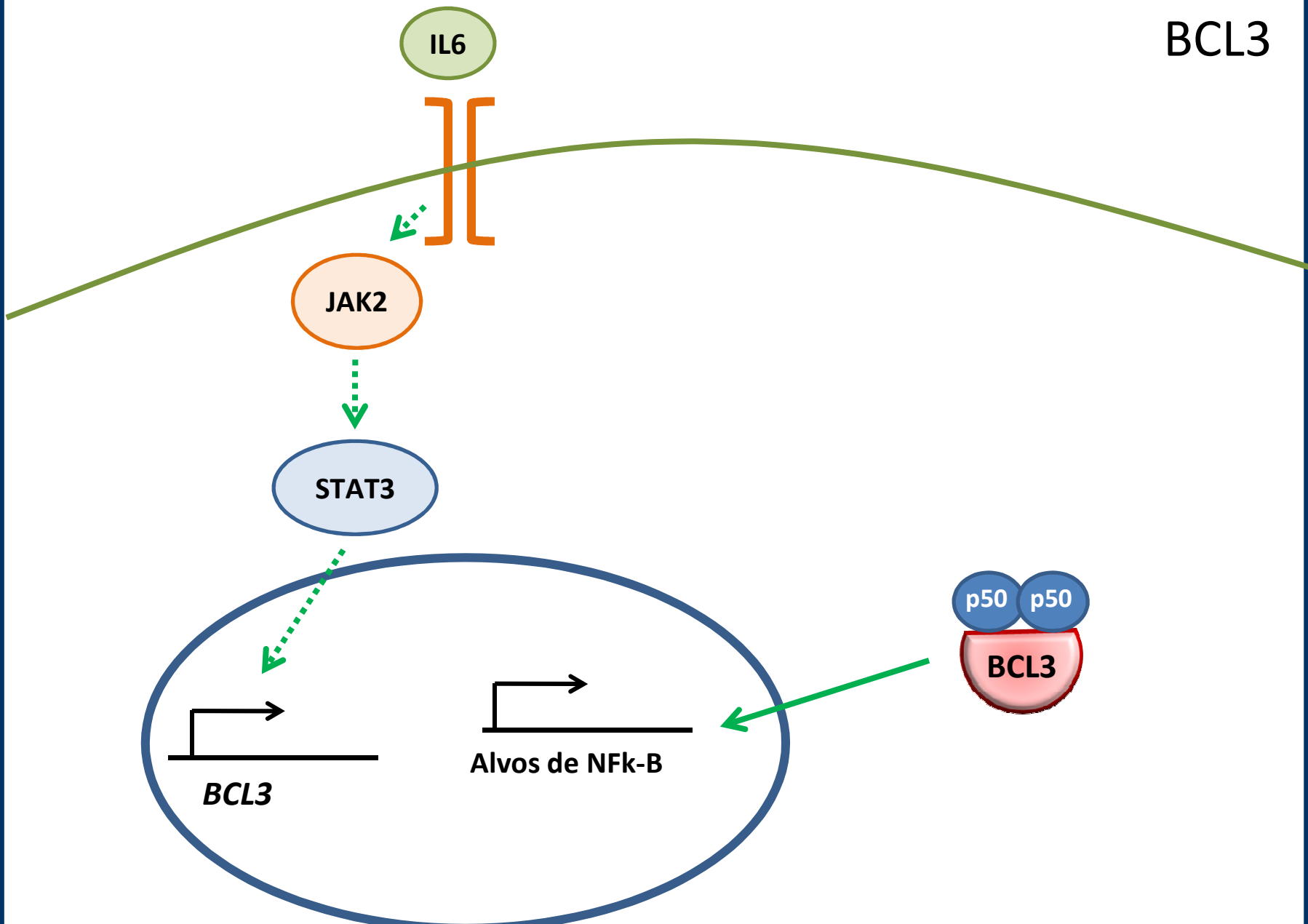


Ministério da Saúde





# BCL3



Qual o perfil de metilação em CEE?



Array: análise randômica e em larga escala

Perfil tumor-específico

Alterações precoces

*DSG1*

*TFF1*

*IL6*

*BCL3*

Ensaio funcionais em linhagens celulares



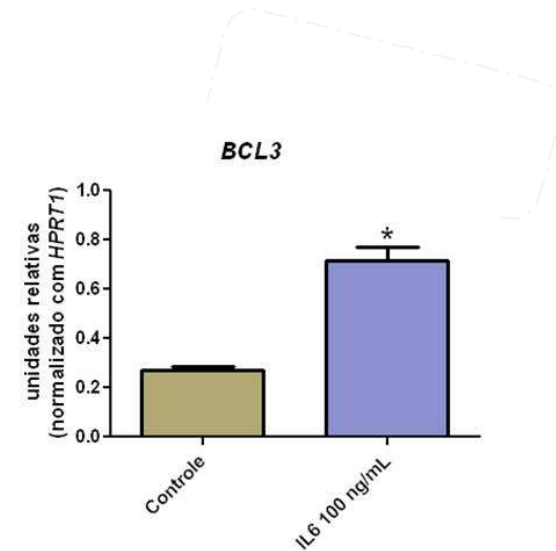
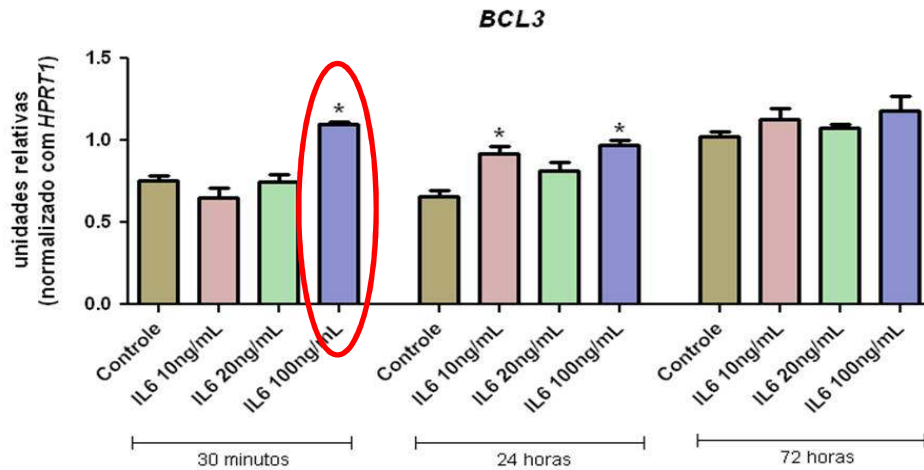
Regulação de *BCL3* por *IL6* em células esofágicas: expressão e metilação

Papel funcional de *BCL3* e *IL6* em células esofágicas: modelo de diferenciação em matrigel



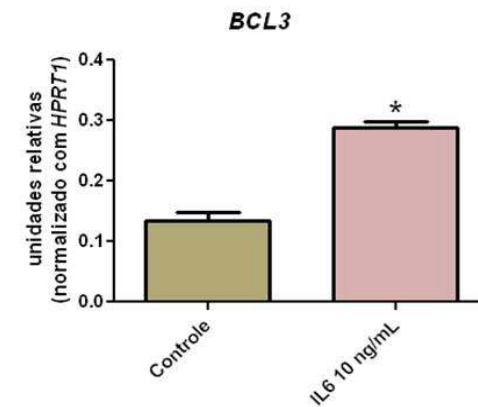
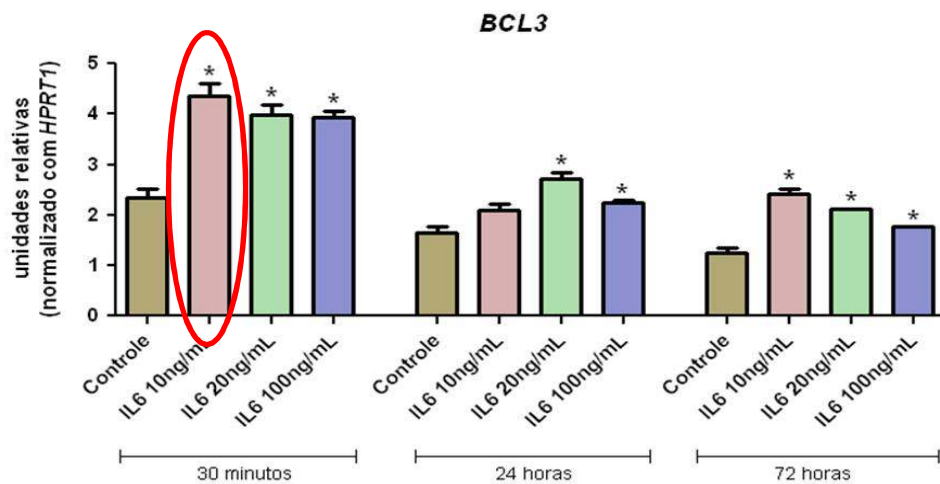
➤ Avaliação da expressão de *BCL3* por RT-PCRq após o tratamento com IL6

▪ Linhagem celular TE-11

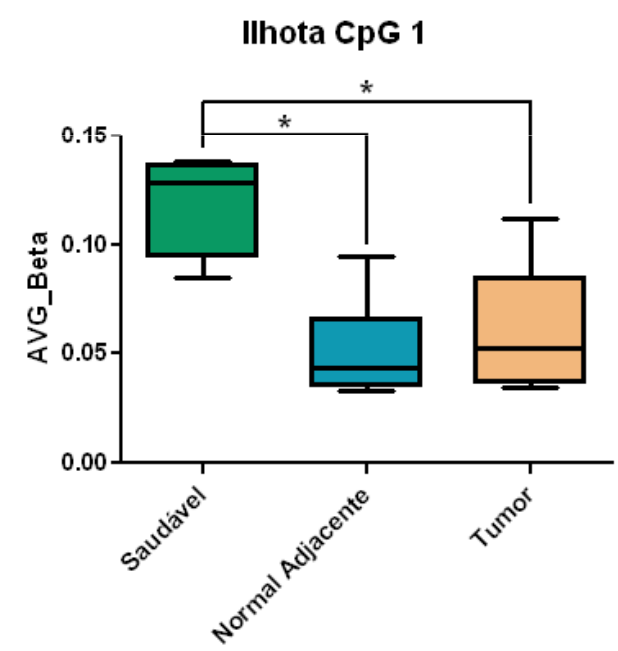


\*p<0,05

▪ Linhagem celular HET-1A

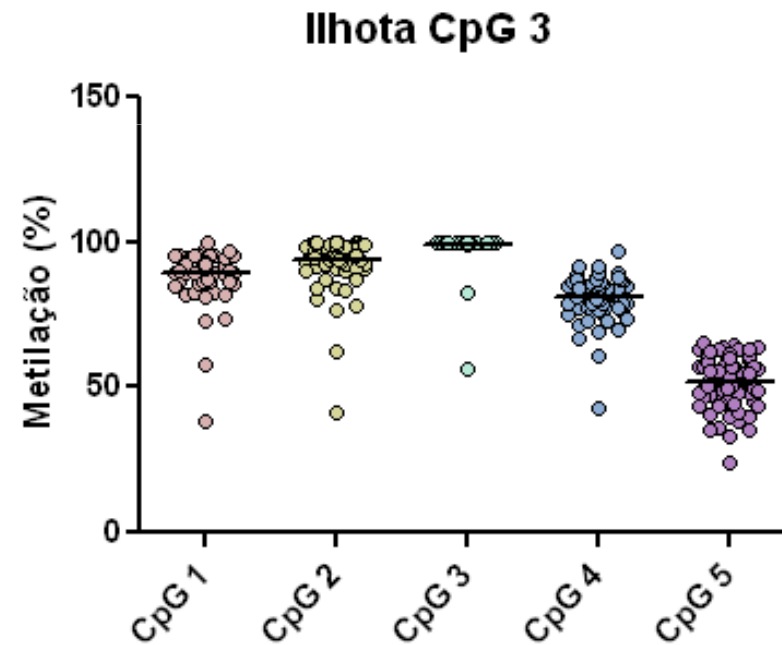
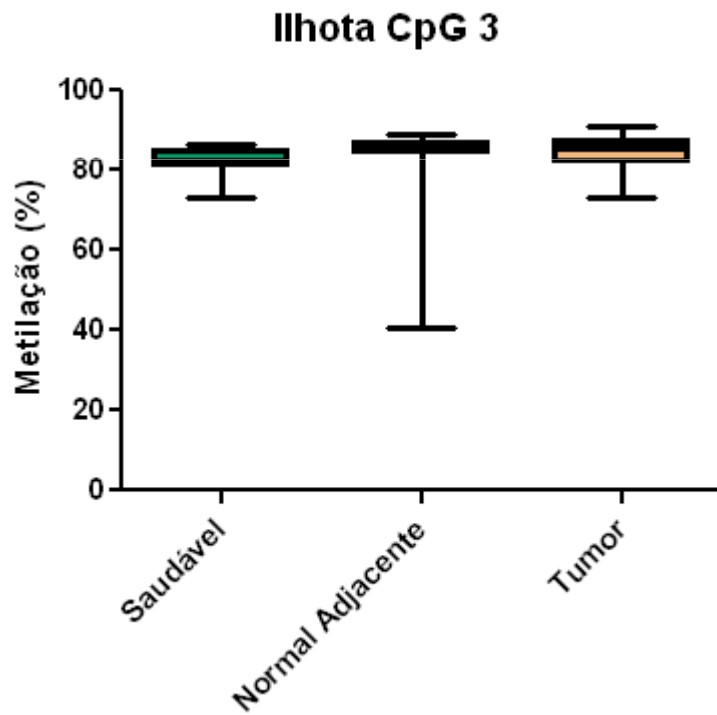


➤ Avaliação do perfil de metilação de *BCL3* em amostras humanas – ilhota CpG 1

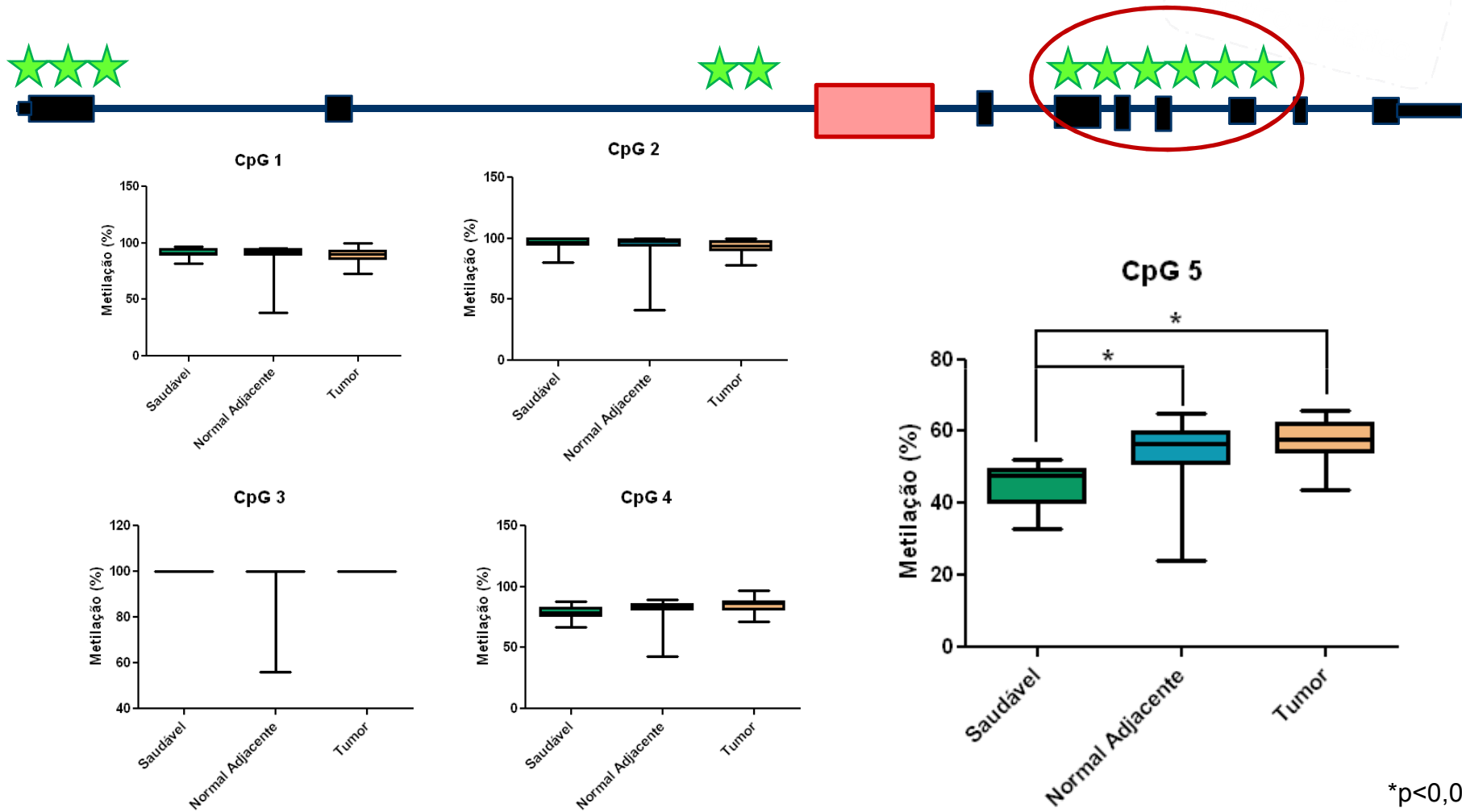


\*p<0,05

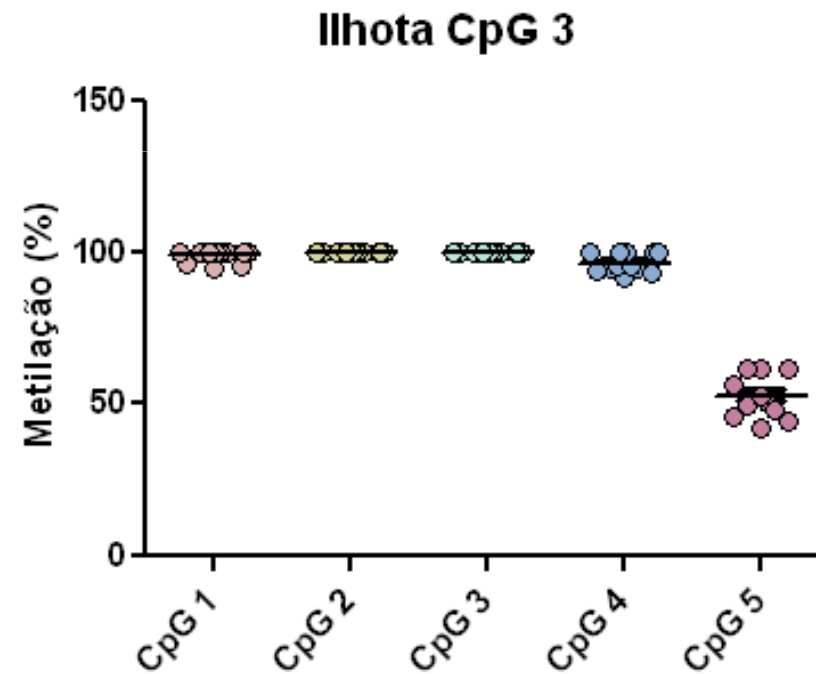
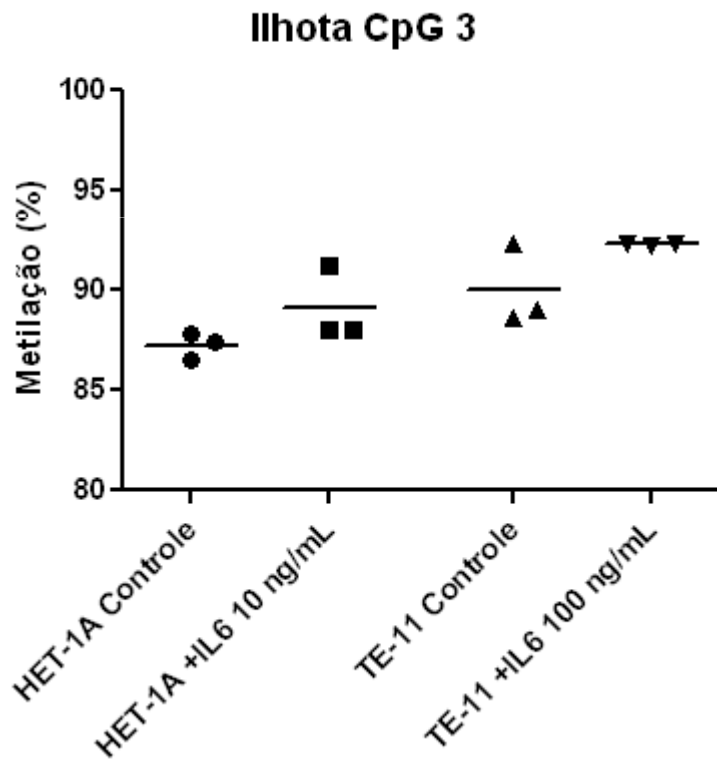
➤ Avaliação do perfil de metilação de *BCL3* em amostras humanas – ilhota CpG 3



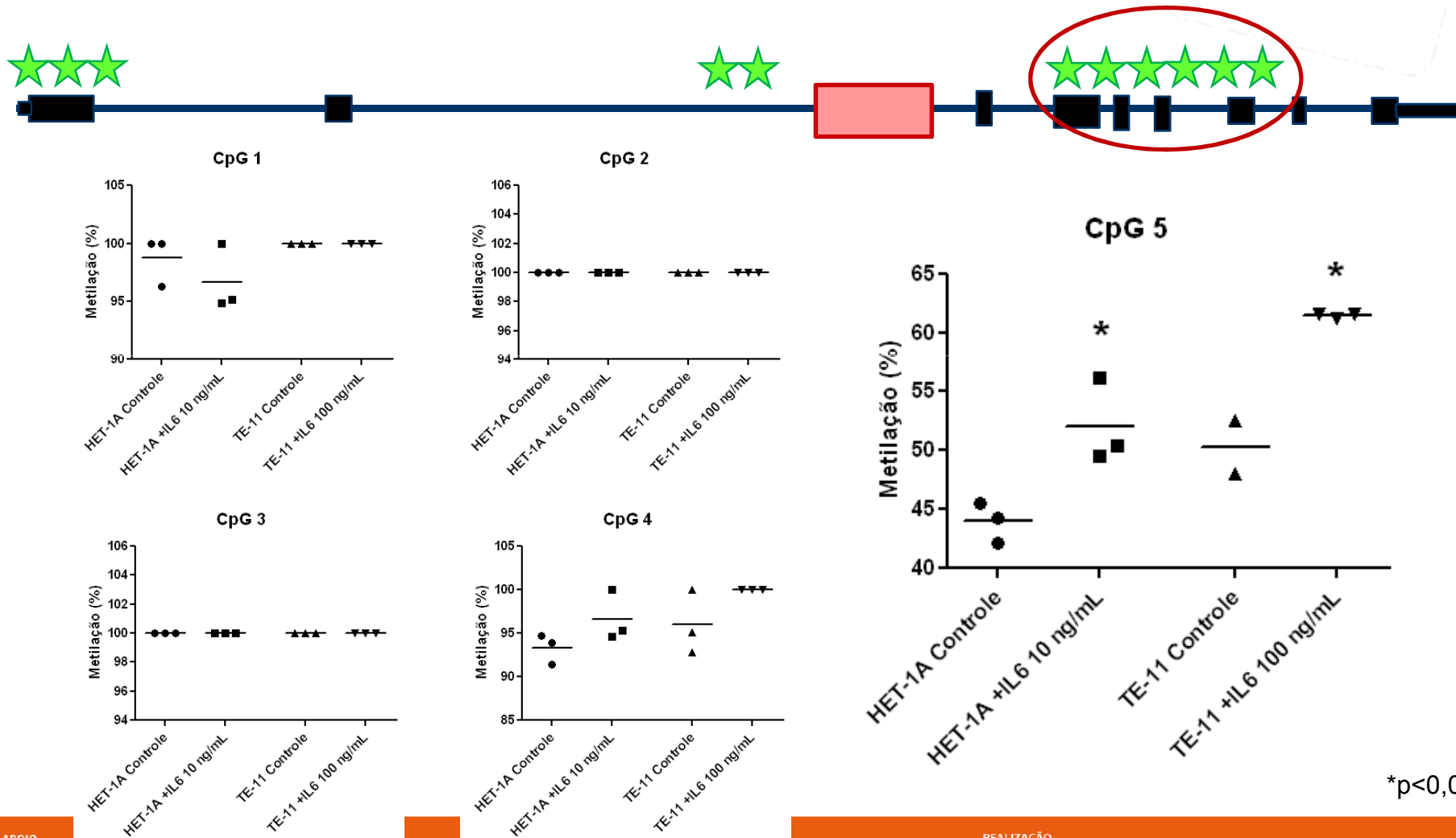
## ➤ Avaliação do perfil de metilação de *BCL3* em amostras humanas – ilhota CpG 3



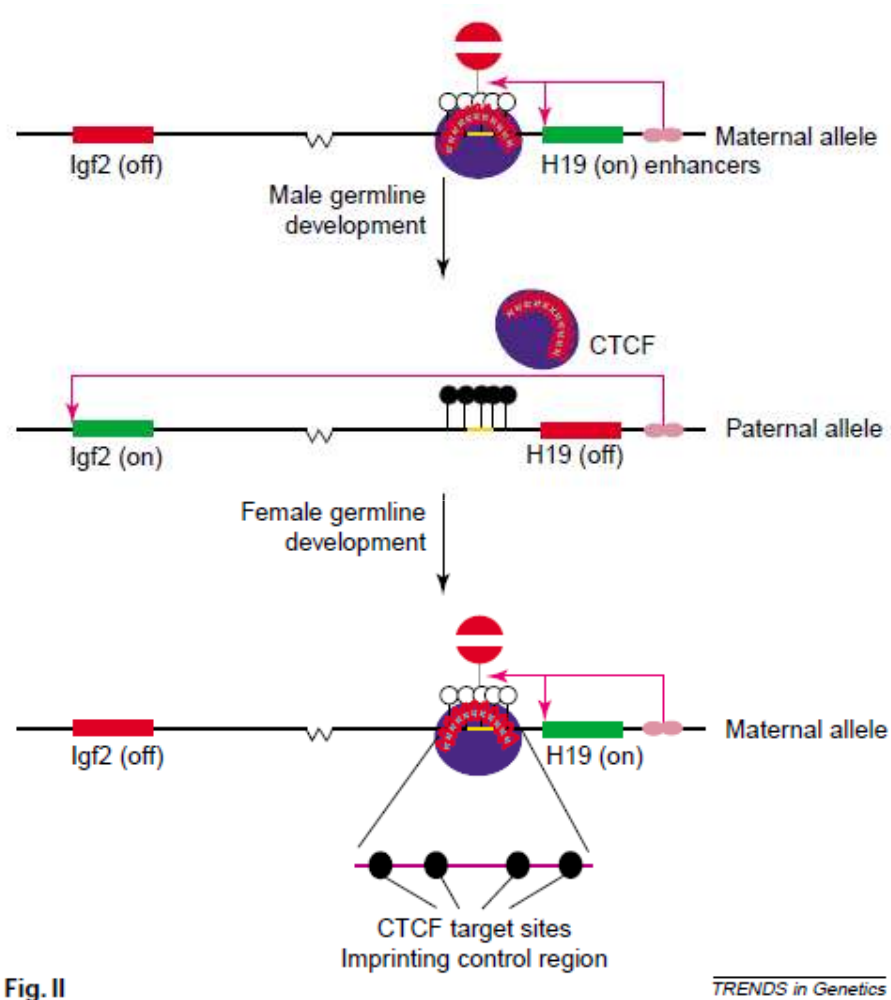
➤ Avaliação do perfil de metilação de *BCL3* em linhagens celulares tratadas com IL6 – ilha CpG 3



# ➤ Avaliação do perfil de metilação de *BCL3* em linhagens celulares tratadas com IL6 – ilhota CpG 3



# ➤ CTCF e regulação epigenética



Ohlsson *et al.*, 2011.

APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da Saúde







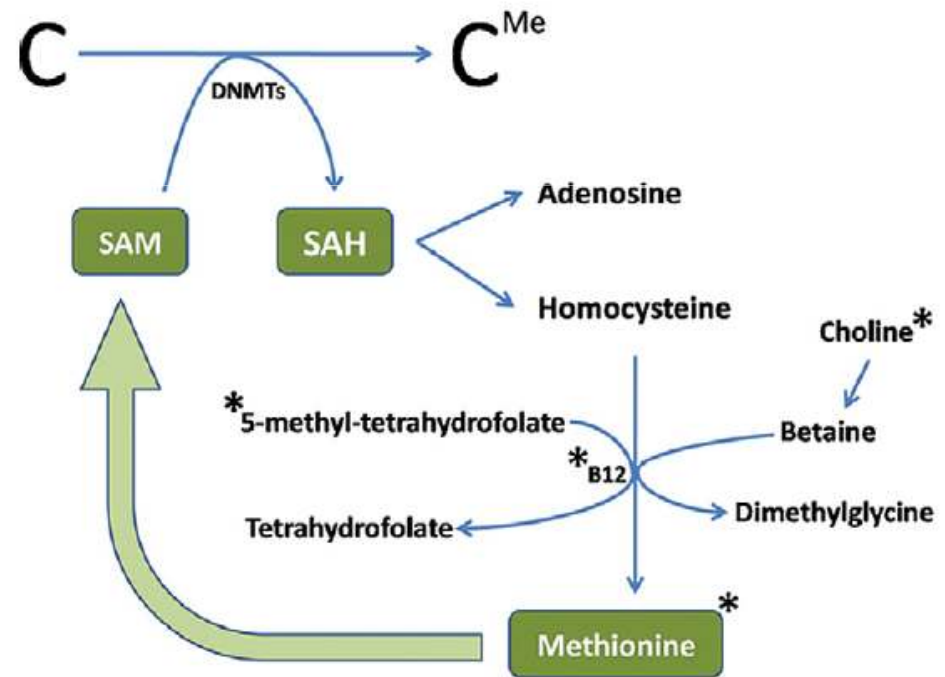
## ➤ Próximas etapas:

- Avaliar se a proteína CTCF participa da regulação da expressão de *BCL3* mediada por IL6

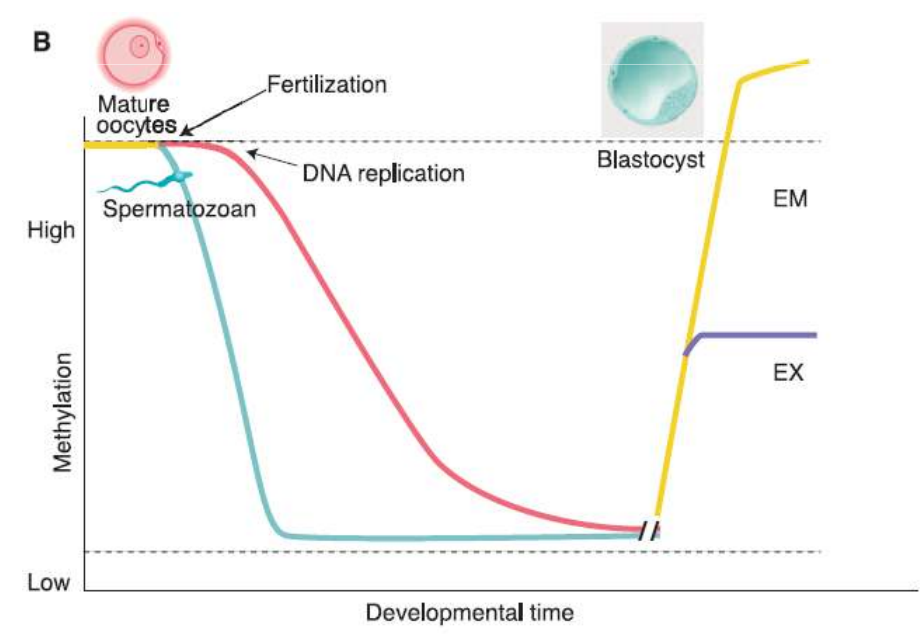
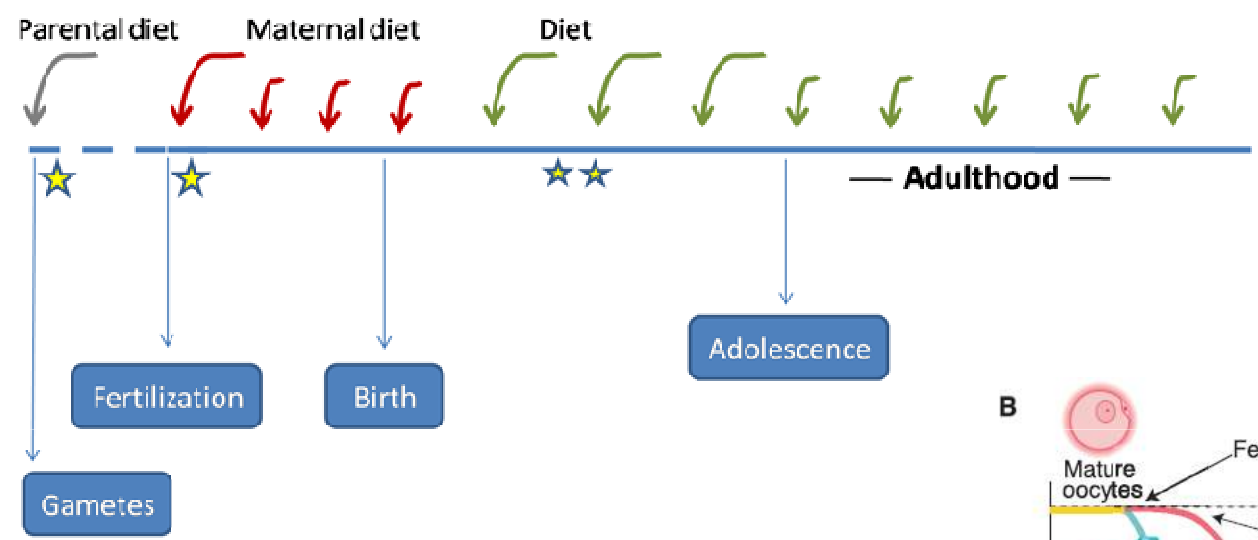
# Outros projetos...

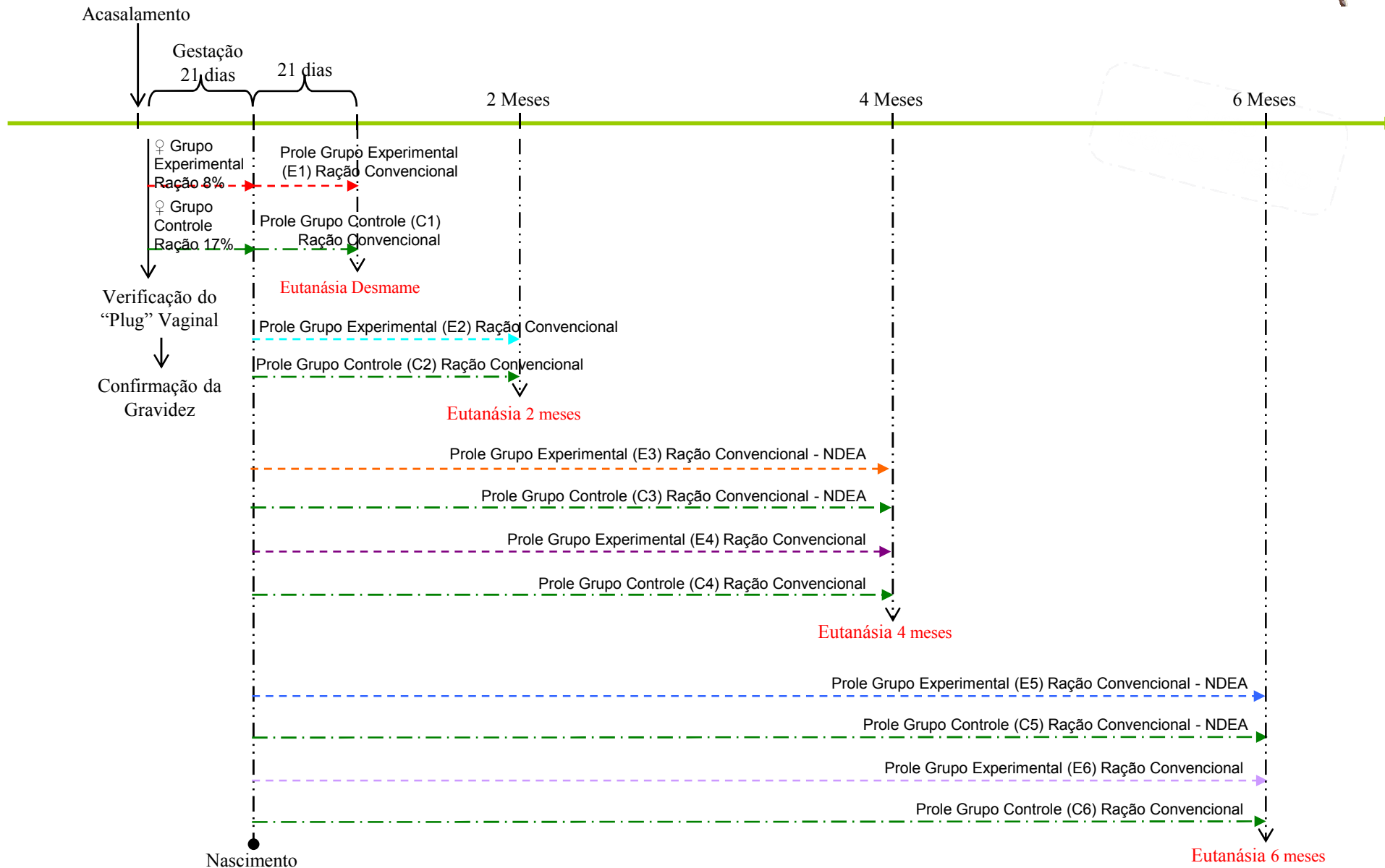
- ❖ Avaliação do efeito da restrição proteica sobre a carcinogênese esofágica (Alda Sampaio)

Carcinoma Epidermóide de Esôfago (CEE)



# ❖ Avaliação do efeito da restrição proteica sobre a carcinogênese esofágica



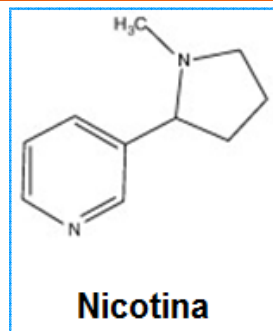


## Outros projetos...

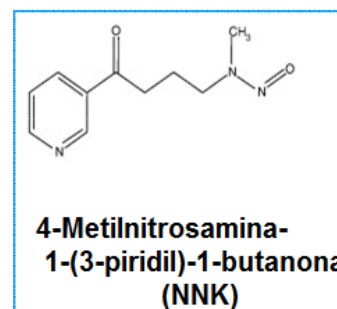
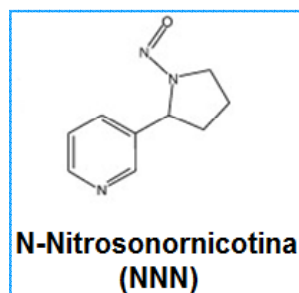
- ❖ Investigação dos mecanismos de ação dos carcinógenos presentes na fumaça do cigarro (Marina Nicolau)



Carcinoma  
Epidermóide de  
Esôfago (CEE)



Dependência



Pré-carcinógenos Potentes

Esses componentes do tabaco são agonistas de receptores colinérgicos nicotínicos (Lee *et al.*, 2011).

Induzem o aparecimento de alterações epigenéticas (Lin *et al.*, 2010; Scherf *et al.*, 2012).

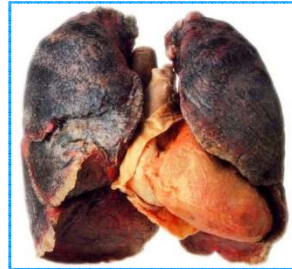




## Pacientes com doenças pulmonares



DPOC



Câncer de Pulmão

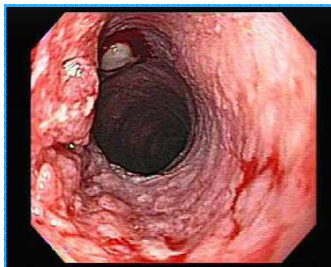


Hipermetilação em genes supressores de tumor e de genes de reparo.

Associação à frequência elevada de exposição à fumaça do tabaco nesses pacientes.

Guzmán *et al.*, 2012

## Pacientes com CEE



Hipometilação de LINE1 na mucosa esofágica não-cancerosa.

Associação com histórico de tabagismo.

Shigaki *et al.*, 2012

# Desenho Experimental

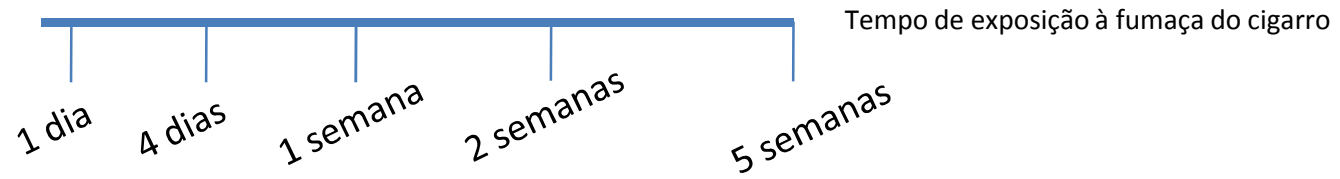


Camundongos Balb/c machos adultos



Exposição à fumaça do cigarro 3R4F (altos níveis de nicotina) por 8h/dia.

Grupos Experimentais



Todos os GEs tiveram seus respectivos grupos controle (GC), que foram mantidos em um ambiente controlado livre da fumaça do cigarro pelo mesmo período de tempo.

## Outros projetos...

### ❖ Avaliação da regulação das DNMTs por TP53 (Vanessa Paiva)

	<i>DNMT3B</i> $\geq 2$	<i>DNMT3B</i> $< 2$	<i>TOTAL</i>
<i>TP53</i> mutado	12 (18%)	2 (3%)	14 (22%)
<i>TP53</i> sem mutação	25 (38%)	26 (40%)	51 (78%)
TOTAL	37 (57%)	28 (43%)	65 (100%)

Simão *et al.*, dados não publicados.

# Programa de Carcinogênese Molecular



APOIO



REALIZAÇÃO



Ministério da  
Saúde

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA