



Identificação de Genes Relacionados com o Tumor Odontogênico Ceratocístico: Uma Análise Bioinformática

Polliana Ferreira Mendes Capuchinho, Lucyana Conceição Farias

Introdução

O Tumor odontogênico ceratocístico (TOC) é uma neoplasia derivada de epitélio odontogênico, sendo de grande relevância clínica devido ao seu comportamento clínico agressivo e a sua alta taxa de recorrência, além de apresentar aspectos histológicos específicos [1]. Por causa das características que o distinguem das demais lesões odontogênicas, incluindo comportamento agressivo e alterações genéticas associadas a neoplasias, tais como mutações heterozigóticas do gene *PTCH* [2], a partir de 2005, a mais recente Classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou o ceratocisto odontogênico no grupo das neoplasias odontogênicas benignas. Além desta mudança, o termo "ceratocisto odontogênico" foi substituído por "tumor odontogênico queratocístico" [3].

Este tumor se origina de remanescentes da lâmina dentária [4], embora outros autores apontem como origem as células da camada basal do epitélio oral adjacente à lesão, ou ainda a partir da proliferação de pequenos hamartomas epiteliais do epitélio gengival [5]. A característica marcante do tumor odontogênico ceratocístico é a elevada capacidade proliferativa do epitélio, o que pode ser uma das possíveis explicações para a agressividade local, além de sua alta taxa de recorrência [6]. O Tumor Odontogênico Ceratocístico apresenta um mecanismo de crescimento diferenciado, que pode estar relacionado a fatores inerentes ao próprio epitélio, ainda não totalmente elucidados, ou à atividade enzimática na cápsula fibrosa [1,7].

As características moleculares e genéticas do TOC ainda não são bem esclarecidas e mais estudos são necessários para melhor compreender a origem deste tipo de neoplasia. Assim, este trabalho teve por objetivo investigar o envolvimento de genes na patogênese do TOC por meio de análise bioinformática.

Material e métodos

A. Análise bioinformática

Os principais genes envolvidos na patogênese do TOC foram identificados por pesquisa em bases de dados genéticas. Para determinar o conjunto principal de genes, foi realizada uma pesquisa considerando apenas os genes humanos na base de dados GeneCards. As palavras-chave, escolhidas de acordo com Medical Subject Headings (MeSH), foram "Ameloblastoma e expressão gênica". Após esta etapa, foi gerada uma lista de potenciais genes relacionados com a patogênese do TOC.

A lista de genes foi então expandida utilizando o software STRING, considerando as interações diretas e indiretas com um alto grau de confiança (acima de 0,9, intervalo 0-0,99). Com este processo, os novos genes ligados à patogênese do TOC foram identificados. Foram utilizados dados da literatura para evitar dados falsos positivos. O software STRING foi usado para marcar cada interação, a fim de construir o mapa interação entre os genes identificados. Para cada gene identificado foi calculado o WNL (weighted number of links), que aponta possíveis genes líderes envolvidos na patogênese.

Com base no WNL, os genes foram agrupados, através do método estatístico K-means, utilizando para isso o SPSS, versão 18.0. Os genes com maiores valores de WNL foram denominados de genes líderes e apresentavam-se agrupados na primeira classe. Para avaliar as diferenças entre as várias classes em termos de WNL, a análise de variância e os testes pós hoc Tukey-Kramer foram utilizados. A significância estatística foi fixada em um valor $P < 0,001$.

Resultados

A. Investigação de genes relacionados com o ameloblastoma e rede de interações

A busca no GeneCards incluiu 61 genes (142 genes após a expansão) relacionados com o TOC. A Figurs 1 mostra oo



mapa de interação entre este conjunto de genes.

B. Definição de genes líderes

A análise de agrupamento do WNL identificou 2 genes pertencentes ao maior cluster. Os genes do maior cluster são o genes líderes. A análise de variância (ANOVA) revelou uma diferença estatisticamente significativa no WNL. Em particular, o teste post hoc revelou que os genes líderes tinham um WNL significativamente maior quando comparados aos genes das outras classes ($p < 0,001$). A possível função dos genes líderes da patogênese do KOT está resumida na Tabela 1.

Discussão

Apesar de alguns genes mais abordados nos estudos científicos sobre TOC, como o PTCH, não ter sido apontado no estudo entre os genes líderes, os resultados são coerentes com as vias moleculares que levam ao desenvolvimento desta lesão.

O TOC é resultado de um processo de proliferação celular e redução da apoptose; assim, faz-se necessária novas abordagens de investigação para melhor elucidar esta enfermidade, com um foco em marcadores moleculares desses processos. Os genes líderes TP53 e PCNA da patogênese do TOC, de alguma forma, estão envolvidos na regulação do ciclo celular: proliferação celular e apoptose.

Neste contexto, percebe-se que o TOC é consequência de uma regulação do ciclo celular que pode ser por estímulo de um processo proliferativo e/ou inibição de um processo apoptótico. Nota-se que os genes líderes detectados neste trabalho coincidem com a elevada atividade proliferativa do epitélio odontogênico em TOC. A literatura mostrou uma proliferação de células elevada no TOC e índice de apoptose semelhante ao ameloblastoma. Esses achados reforçam a classificação do TOC como um tumor odontogênico e deve contribuir para o seu comportamento clínico agressivo [8].

A pesquisa bibliográfica revelou que os genes identificados como genes líderes na patogênese do TOC, foram especificamente associados com essa enfermidade. Essa busca corroborou a análise bioinformática, sugerindo que os genes identificados como genes líderes podem desempenhar um papel importante no TOC.

Nas análises da atuação da p53 e PCNA na proliferação de células, um estudo foi conduzido para avaliar expressão de p53 e PCNA em diferentes lesões odontogênicas. O nível mais elevado da proteína p53 foi observado na camada basal de cistos radiculares (CR), e a maior expressão de PCNA foi na camada suprabasal do TOC. Constatou-se diferenças significativas quanto a expressão da p53 em camadas basais e suprabasais, bem como a expressão de PCNA na camada suprabasal, no entanto não houve diferença significativa na expressão de PCNA na camada basal dessas lesões. A superexpressão do PCNA na camada suprabasal do TOC pode explicar a sua natureza neoplásica e tendência à recorrência [9]. Esses resultados suportam as hipóteses levantadas no presente estudo de que o TOC apresenta características proliferativas das neoplasias associadas a alterações moleculares dos genes líderes.

Considerações finais

Neste estudo, alguns genes com um papel potencial importante na patogênese do TOC foram identificados. Mesmo com as limitações de qualquer estudo teórico, esses resultados podem sugerir preliminarmente o envolvimento de genes promissores para uma melhor compreensão da patogênese das lesões odontogênicas.

Estes dados obtidos por meio da análise bioinformática podem contribuir para melhorar o conhecimento sobre os processos celulares e mecanismos moleculares das lesões odontogênicas, em especial o tumor odontogênico ceratocístico. Destaca-se que uma análise detalhada dos mapas de interação de genes e do WNL pode ter grande valor na identificação de novos alvos para estudos experimentais futuros, os quais confirmando as hipóteses podem indicar possíveis alvos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas menos invasivas.

Mesmo com as limitações de qualquer estudo teórico, esses resultados podem sugerir preliminarmente o envolvimento de genes promissores para uma melhor compreensão da patogênese da referida neoplasia odontogênica.

Referências

- [1] NEVILLE BWD, D.D.; ALLEN, C.M.; BOUQUOT, J.E. Patologia oral e maxilofacial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009.
- [2] BARRETO DC, BALE AE, DE MARCO L, GOMEZ RS. Immunolocalization of PTCH protein in odontogenic cysts and tumors. Journal of dental research. 2002 Nov;81(11):757-60.
- [3] BARNES LJ, REICHART P, SINDRANSKY D. World Health Organizations Classification of Tumour. Pathology & Genetics of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press 2005.



- [4] TSUKAMOTO G SA, AKIYAMA T, ISHIKAWA T, KISHIMOTO K, NISHIYAMA A, MATSUMURA T. A radiologic analysis of dentigerous cysts and odontogenic keratocysts associated with a mandibular third molar. . Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001;91:5.
- [5] AMORIM RFB GG, FIGUEIREDO CRLV, PINTO LP. Ceratocisto Odontogênico: estudo epidemiológico de 26 casos. . Rev Odonto Ciência. 2003;18:8.
- [6] THOSAPORN W IA, PONGSIRIWET S, NG KH. A comparative study of epithelial cell proliferation between the odontogenic keratocyst, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, and ameloblastoma.. Oral Dis. 2004;10:5.
- [7] LI TJ, BROWNE RM, PRIME SS, PATERSON IC, MATTHEWS JB. p53 expression in odontogenic keratocyst epithelium. Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology. 1996 May;25(5):249-55.
- [8] THOMAS GR, NADIMINTI H, REGALADO J. Molecular predictors of clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma. International journal of experimental pathology. 2005 Dec;86(6):347-63.
- [9] KATAYAMA A, BANDO H, KISHIBE K, TAKAHARA M, OGINO T, NONAKA S, et al. Expressions of matrix metalloproteinases in early-stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2004 Jan 15;10(2):634-40.

Tabela 1. Genes líderes (TP53, PCNA) na patogênese do Tumor odontogênico ceratocístico e suas funções moleculares.

Gene	Função
TP53	Tumor protein p53; Atua como um supressor tumoral em muitos tipos de tumores; induz a parada do crescimento ou apoptose, dependendo das circunstâncias fisiológicas e tipo de célula. Envolvido na regulação do ciclo celular como um ativador-trans que atua para regular negativamente a divisão celular através do controle de um conjunto de genes necessários para este processo. Um dos genes ativados é um inibidor de cinases dependentes de ciclina. A indução de apoptose parece ser mediada quer pela estimulação de expressão de BAX e FAS, ou pela repressão da expressão de Bcl-2. Implicado na sinalização Notch cross-over (393 aa)
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen; Esta proteína é uma proteína auxiliar da DNA-polimerase delta e está envolvida no controle da replicação de DNA eucariótico, aumentando a capacidade de processamento da polimerase durante o alongamento da costa principal (por semelhança) (261 aa)

Fonte: Web-available software STRING (version 9.1)

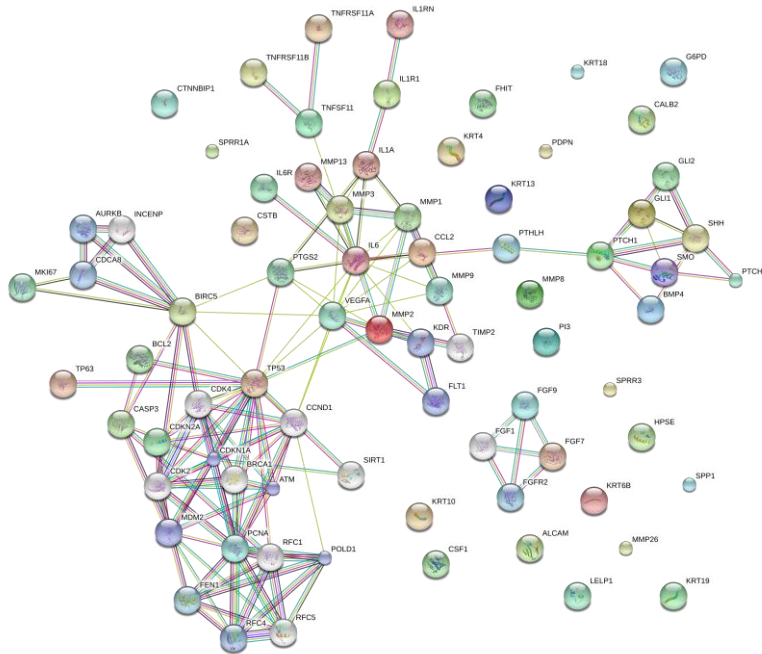


Figura 1. Mapa da interação entre genes envolvidos na patogênese do Tumor odontogênico ceratocístico (nível de confiança > 0,90). Rede gerada no software STRING (version 9.1).