



Perspectivas de Expressão de Genes Relacionados com o Ameloblastoma: Uma Análise Bioinformática

Carlos Gabriel Martins Pereira, Eliane Macedo Sobrinho Santos, Lucyana Conceição Farias

Introdução

O ameloblastoma (AM) pertence a um amplo grupo de tumores odontogênicos que acomete o complexo maxilo-mandibular. De acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde, este pertence ao grupo dos tumores que apresentam epitélio odontogênico sem ectomesênquima associado. É classificado como um tumor benigno; no entanto, apresenta comportamento localmente invasivo e elevadas taxas de recorrência [1]. Apesar da raridade, é descrita na literatura, uma variante maligna do AM, que apresenta capacidade de originar focos metastáticos, especialmente no pulmão [2].

Tumores epiteliais, como o ameloblastoma, são reconhecidos pela sua origem a partir de remanescentes de epitélio odontogênico. Os mecanismos específicos que levam ao seu desenvolvimento não são bem estabelecidos. A identificação de moléculas sinalizadoras, comuns nas fases da odontogênese e no ameloblastoma, sugere que a ativação aberrante ou a desregulação de genes relacionados à histogênese dental pode desempenhar um papel importante na patogênese do tumor [3]. As interações epitélio-mesênquimais que ocorrem durante a odontogênese são finamente reguladas por diversas vias de sinalização e genes relacionados responsáveis, de maneira geral, pelos mecanismos de desenvolvimento, interações epitélio-mesênquima, diferenciação celular e formação óssea [4]. A literatura mostra outros aspectos genéticos e moleculares que podem exercer influência na patogênese do ameloblastoma, destacando a apoptose, clonalidade, genes supressores de tumor e outros relacionados ao ciclo celular [5].

Pouco se conhece sobre a influência de modificações genéticas e epigenéticas no desenvolvimento de tumores odontogênicos, por isso este trabalho teve por objetivo investigar o envolvimento de genes na patogênese do AM, por meio de análise bioinformática.

Material e métodos

A. Análise bioinformática

Os principais genes envolvidos na patogênese do AM 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 AM.

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 AM 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 foram agrupados na primeira classe. Para avaliar as diferenças entre as várias classes em termos de WNL, a análise de variância e os testes pos 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 127 genes (464 genes após a expansão) relacionados com o TOC. A Figura 1 mostra o mapa de interação entre este conjunto de genes.



B. Definição de genes líderes

A análise de agrupamento do WNL identificou 1 gene pertencente 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 do gene líder da patogênese do AM está resumida na Tabela 1.

Discussão

O AM 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 focada em marcadores moleculares desses processos. O CDK1 foi o gene líder da patogênese do AM e que, de alguma forma, está envolvido na regulação do ciclo celular: proliferação celular e apoptose.

A malignização dessas neoplasias é rara, mas considerada possível por alguns autores. Isso pode ocorrer devido a uma expressão anormal de genes supressores e oncogenes no epitélio de revestimento, além de uma possível alteração dos mecanismos de apoptose e de proliferação celular [6]. Diversos estudos com marcadores de proliferação celular demonstraram que lesões com comportamento clínico mais invasivo possuem maiores taxas de proliferação [7,8]. Além disso, outro fator que colabora para determinar certo percurso de uma lesão é o índice de apoptose. O gene líder CDK1 apontado nesta análise pode cumprir o papel de marcador de proliferação celular e/ou marcador anti-apoptótico.

Não foi encontrado na literatura pertinente nenhum estudo realizado com o objetivo de avaliar a atuação do gene CDK1 na etiologia desta enfermidade. Entretanto, complexos de CDK1-ciclina B são essenciais para iniciar mitose e pode fosforilar um amplo espectro de proteínas envolvidas em processos regulatórios e estruturais necessários para a mitose, tais como quebra do envelope nuclear, condensação da cromatina, a fragmentação do Golgi Aparelho, formação do fuso mitótico [9,10].

O AM apresenta atividade proliferativa intensa comum às neoplasias. Como descrito anteriormente, possuir um potencial proliferativo em diferentes intensidade pode estar diretamente relacionado com o equilíbrio proliferação-apoptose. Na regulação desse mecanismo, diversos fatores podem agir estimulando ou inibindo cada um desses processos. São várias as proteínas que tanto podem agir impedindo a proliferação celular através de mecanismos de supressão tumoral, como podem também promover o crescimento através da inibição da apoptose.

Considerações finais

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 ameloblastoma. 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.

Referências

- [1] FREGNANI ER, DA CRUZ PEREZ DE, DE ALMEIDA OP, KOWALSKI LP, SOARES FA, DE ABREU ALVES F. Clinicopathological study and treatment outcomes of 121 cases of ameloblastomas. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2010 Feb;39(2):145-9.
- [2] VAN DAM SD, UNNI KK, KELLER EE. Metastasizing (malignant) ameloblastoma: review of a unique histopathologic entity and report of Mayo Clinic experience. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2010 Dec;68(12):2962-74.
- [3] STOLF DP KA, BANERJEE AG. Genetic aspects of ameloblastoma: a brief review. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2007;2(5):7.
- [4] SARKAR L SP. Expression of Wnt signaling pathway genes during tooth development. *Mech Dev*. 1999;85:4.
- [5] GOMES CC DM, GOMEZ RS. Review of the molecular pathogenesis of the odontogenic keratocyst. *Oral Oncol*. 2009;45:4.
- [6] EVERSOLE LR. Malignant epithelial odontogenic tumors. *Seminars in diagnostic pathology*. 1999 Nov;16(4):317-24.
- [7] MATTHEWS JB, MASON GI, BROWNE RM. Epithelial cell markers and proliferating cells in odontogenic jaw cysts. *The Journal of pathology*. 1988 Dec;156(4):283-90.
- [8] THOSAPORN W, IAMAROON A, PONGSIRIWET S, NG KH. A comparative study of epithelial cell proliferation between the odontogenic keratocyst, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, and ameloblastoma. *Oral diseases*. 2004 Jan;10(1):22-6.
- [9] MALUMBRES M, BARBACID M. Mammalian cyclin-dependent kinases. *Trends in biochemical sciences*. 2005 Nov;30(11):630-41.
- [10] MAHADEVAN D, PLUMMER R, SQUIRES MS, RENSVDOLD D, KURTIN S, PRETZINGER C, et al. A phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of AT7519, a cyclin-dependent kinase inhibitor in patients with refractory solid tumors. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2011 Sep;22(9):2137-43.



Tabela 1. Gene líder (CDK1) na patogênese do Ameloblastoma e sua função molecular

Gene	Função
CDK1	cyclin-dependent kinase 1; desempenha um papel central no controle do ciclo de células eucarióticas. É necessário em células mais ativas para a entrada na fase S e mitose. p34 é um componente do complexo da cinase que fosforila o terminal C repetitivo da RNA polimerase II (297 aa)

Fonte: Web-available software STRING (version 9.1)

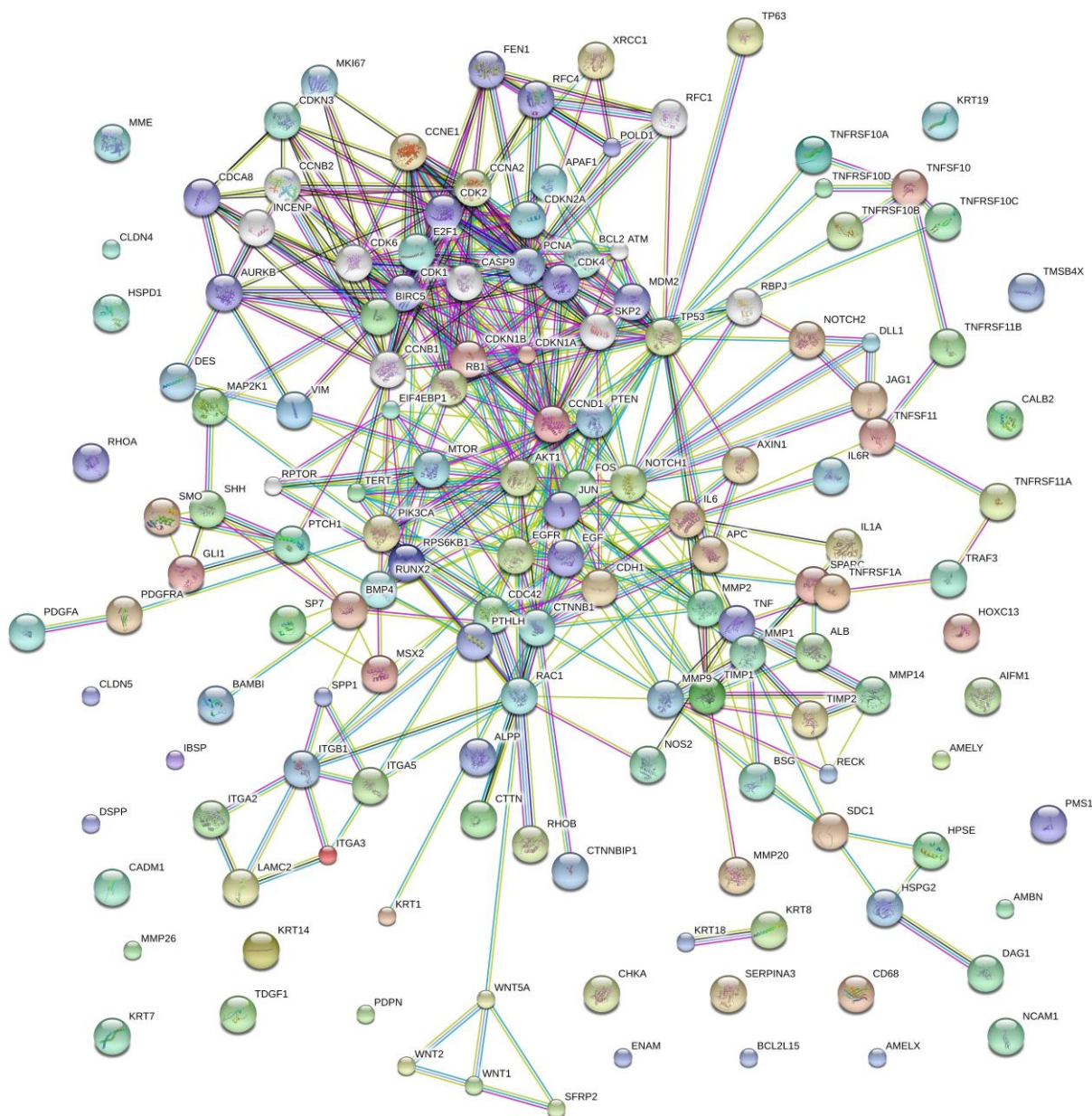


Figura 1. Mapa da interação entre genes possivelmente envolvidos na patogênese do ameloblastoma (nível de confiança > 0,90). Rede gerada no software STRING (version 9.1).