

Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma*

*Molecular genetics of non-melanoma skin cancer**

Marcos Antonio Rodrigues Martinez¹
Itamar Romano Garcia Ruiz⁴

Guilherme Francisco²
Cyro Festa Neto⁵

Luciana Sanches Cabral³

Resumo: Os cânceres cutâneos não melanoma são as neoplasias malignas mais comuns em humanos. O carcinoma basocelular e o carcinoma espinocelular representam cerca de 95% dos cânceres cutâneos não melanoma, o que os torna um crescente problema para a saúde pública mundial devido a suas prevalências cada vez maiores. As alterações genéticas que ocorrem no desenvolvimento dessas malignidades cutâneas são apenas parcialmente compreendidas, havendo muito interesse no conhecimento e determinação das bases genéticas dos cânceres cutâneos não melanoma que expliquem seus fenótipos, comportamentos biológicos e potenciais metastáticos distintos. Apresenta-se uma revisão atualizada da genética molecular aplicada aos cânceres cutâneos não melanoma, em especial ao carcinoma basocelular e carcinoma espinocelular, enfatizando os mais freqüentes genes e os principais mecanismos de instabilidade genômica envolvidos no desenvolvimento dessas malignidades cutâneas.

Palavras-chave: Carcinoma basocelular; Carcinoma de células escamosas; Instabilidade cromossômica; Neoplasias cutâneas; Neoplasias cutâneas/genética; Perda de heterozigidade; Repetições de microssatélites

Abstract: *Non-melanoma skin cancers are the most common malignant neoplasms in humans. About 95% of all non-melanoma skin cancers are represented by basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. Their prevalences are still increasing worldwide, representing an important public health problem. The genetic alterations underlying basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma development are only partly understood. Much interest lies in determining the genetic basis of non-melanoma skin cancers, to explain their distinctive phenotypes, biological behaviors and metastatic potential. We present here a molecular genetic update, focusing on the most frequent genes and genomic instability involved in the development and progression of non-melanoma skin cancers.*

Keywords: *Carcinoma, basal cell; Carcinoma, squamous cell; Chromosomal instability; Loss of heterozygosity; Microsatellite repeats; Skin neoplasms; Skin neoplasms/genetics*

*Trabalho realizado pelo Grupo de Estudos de Câncer Cutâneo do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e Laboratório de Genética do Instituto Butantã - São Paulo (SP), Brasil.

Conflito de interesse declarado: Nenhum

¹ Mestre em Dermatologia pela Universidade de São Paulo. Dermatologista Assistente do Hospital Mário Covas da Fundação ABC/Faculdade de Medicina do ABC. Colaborador do Ambulatório de Oncologia Cutânea do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) - São Paulo (SP), Brasil.

² Biólogo, Mestrando pelo Hospital do Câncer. Laboratório de Oncologia Experimental LIM-24, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) - São Paulo (SP), Brasil.

³ Bióloga, Mestranda pela Fisiopatologia Experimental, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Laboratório de Genética, Instituto Butantã - São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Professora Doutora, Bióloga, Pesquisadora nível VI do Laboratório de Genética do Instituto Butantã - São Paulo (SP), Brasil.

⁵ Professor Doutor do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

De maneira geral, o câncer é doença causada por mutações genéticas que conferem às células algumas características especiais, como capacidade ilimitada de proliferação, perda de resposta a fatores de inibição de crescimento, evasão de apoptose (morte celular programada), capacidade de invadir outros tecidos (metástases) e produção de novos vasos sanguíneos (angiogênese). Sendo assim, a maioria dos tumores malignos cutâneos não herdados resulta de mutações causadas por carcinógenos que de alguma forma promovem danos ao DNA e conferem vantagens que propiciam o crescimento celular e a invasão de outros tecidos.

O câncer cutâneo não melanoma (CCNM) é o tipo de câncer mais incidente no Brasil em ambos os sexos, com 116 mil novos casos estimados para 2006.¹ Por tratar-se de neoplasias malignas de baixa letalidade e bom prognóstico, é provável que exista sub-registro devido ao subdiagnóstico, à característica indolente e à instituição de tratamento adequado e oportuno. Por essa razão, as estimativas das taxas de incidência e dos números esperados de casos novos de CCNM devem ser consideradas estimativas mínimas.¹

Aproximadamente 95% dos CCNMs são representados pelo carcinoma espinocelular (CEC) e pelo carcinoma basocelular (CBC), sendo este último a neoplasia maligna cutânea mais freqüente, representando aproximadamente 75% dos CCNMs no mundo ocidental.² Nos Estados Unidos o CBC é o tipo de câncer mais diagnosticado, com quase um milhão de casos estimados por ano.³

Os fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento dos CCNMs são bem conhecidos e incluem principalmente raça, idade, gênero, exposição crônica a agentes mutagênicos químicos e físicos, além de fatores genéticos.⁴ A exposição excessiva à radiação ultravioleta (UV), em especial ao ultravioleta tipo B (UVB), tem sido associada ao aumento do risco para o desenvolvimento dos cânceres cutâneos incluindo o CBC e CEC,² pois pode causar mutações gênicas no ácido desoxirribonucléico (DNA) dos queratinócitos, sendo que a falha no reparo dessas alterações gênicas pode levar a crescimento celular desordenado e formação de tumor.⁵ Além disso, a radiação UV tem grande efeito sobre o sistema imune cutâneo, induzindo a um estado de imunossupressão local que impede a rejeição do tumor neoformado.⁶

Carcinoma basocelular

A transformação maligna de uma célula da camada basal da epiderme ou dos anexos dá origem ao CBC, tumor que apresenta como principais características a indolência e o crescimento lento, sendo

localmente destrutivo e raramente produzindo metástases.

As formas não herdadas (esporádicas) de CBC representam a maioria absoluta dos casos diagnosticados, enquanto as herdadas são mais raras e fazem parte de algumas síndromes, como a do nevo basocelular (SNBC).

O CBC possui diferenças de comportamento biológico que podem ser explicadas pela presença de fatores intrínsecos ao próprio tumor, como o padrão de crescimento tumoral, o potencial de recorrência e metástase, o padrão histológico e os fatores genéticos.⁷ Fatores extrínsecos, como sítio de origem, terapêutica escolhida e estado imunológico do portador da neoplasia, também são importantes.

Do ponto de vista histológico, são observados padrões de crescimento variáveis que conferem ao CBC diferenças em seu comportamento biológico. A classificação baseada nos padrões de crescimento tem maior significância biológica e considera a existência dos tipos nodular, superficial, infiltrativo, esclerodermiforme, micronodular e de padrão misto,⁸ sendo útil na conceituação de alto e baixo risco dos subtipos histológicos de CBC.

Os CBCs de alto risco são caracterizados pela probabilidade aumentada de extensão subclínica, excisão incompleta, comportamento agressivo de invasão ou recorrência local, e incluem os subtipos superficial, esclerodermiforme, micronodular e os mistos.

Carcinoma espinocelular

O CEC, ou carcinoma epidermóide, representa cerca de 20% das neoplasias malignas cutâneas. É constituído por proliferação atípica de células espinhosas, de caráter invasor, podendo gerar metástases. Os CECs primários da pele em geral originam-se em regiões expostas ao sol e não há dúvida de que exposição crônica e cumulativa à radiação UV, em especial ao UVB, é a causa primária da carcinogênese cutânea.⁹⁻¹¹ Enquanto os CBCs esporádicos desenvolvem-se “de novo”, os CECs também podem surgir a partir de lesões pré-cancerosas, como queratoses actínicas (QA), queilites actínicas, leucoplasias orais e radiodermites crônicas. Entretanto, outros fatores extrínsecos podem desempenhar importante papel causal e incluem outras formas de radiação, substâncias químicas como os hidrocarbonetos e o arsênico, tabaco, queimaduras, infecção pelo papiloma vírus humano (HPV), úlceras crônicas, entre outros.¹²

O comportamento biológico dos CECs é semelhante ao dos carcinomas epidermóides originados de outros epitélios escamosos, e sua diferenciação histológica é baseada principalmente na intensidade

de queratinização. As formas bem diferenciadas em geral exibem pequenos focos de queratina dentro de lóbulos tumorais (pérolas córneas), paraqueratose, além de pequena atividade mitótica e pleomorfismo mínimo. Já os CECs pouco diferenciados demonstram acentuado pleomorfismo e pouca ou nenhuma capacidade de produzir queratina. Nos casos de anaplasia intensa, o exame imuno-histoquímico pode auxiliar na identificação da origem epitelial do tumor.¹²

Conceitos básicos em genética molecular

Antes de prosseguir, é de fundamental importância a exposição de alguns conceitos básicos que irão auxiliar na compreensão da genética molecular dos CKNMs.

Organização e estrutura dos genes

A palavra genética deriva da raiz grega *gen*, que significa “vir a ser”. Foi empregada pela primeira vez em 1906, por Bateson, para designar o estudo da hereditariedade e da variação dos seres vivos.¹³

A genética desenvolveu-se a partir de meados do século XIX com os estudos de hereditariedade de Mendel, passando pela elucidação da estrutura de DNA por Watson e Crick (1957)¹⁴ e chegando até a complexidade da biologia molecular atual, quando alguns genomas inteiros já são conhecidos, como, por exemplo, o genoma humano.

O termo “genoma” designa o conjunto completo de seqüências no material genético de um organismo. Ele inclui a seqüência de cada cromossomo e ainda qualquer DNA contido em organelas.¹⁴ O estado atual de conhecimento da bioinformática permite a identificação de seqüências codificadoras de proteínas com base em parâmetros bem definidos, mas não

exclusivos. De acordo com esses critérios, estima-se que o genoma humano possua pouco mais de 30 mil genes, o que corresponde a aproximadamente 10% do genoma.¹⁵

Em termos moleculares, gene é a seqüência de DNA necessária para a síntese de uma molécula de ácido ribonucléico (RNA), que pode levar à síntese de uma proteína funcional, seguindo assim o que foi denominado “dogma central da biologia molecular” (Figura 1A).

Os genes são precedidos por uma região dita promotora, que é responsável pela regulação de sua ativação (expressão). São constituídos por regiões codificadoras (éxons) intercaladas com regiões que, em princípio, não são codificadoras (íntrons) (Figura 1B).

Durante o processamento do pré-mRNA, os íntrons são retirados, e os éxons, ligados entre si de forma precisa e na mesma ordem em que se encontravam no respectivo gene, por um processo denominado splicing. Os éxons contêm a seqüência de nucleotídeos necessária para a síntese de aminoácidos de uma proteína durante a tradução nos ribossomos. Embora a maioria dos genes codifique proteínas, alguns codificam diferentes tipos de RNA, como o transportador (RNAt) e o ribossômico (RNAr), entre outros tipos.¹⁶

Proto-oncogenes e genes supressores de tumor

Há duas classes principais de genes que podem sofrer mutações e contribuir para a gênese do câncer, os oncogenes e os genes supressores de tumor.³

Genes que atuam no sentido de estimular a divisão celular podendo levar ao crescimento descontrolado são chamados proto-oncogenes. Esses genes são ativos na fase embrionária, e inativos nas células adultas. Muitos proto-oncogenes são moléculas sina-

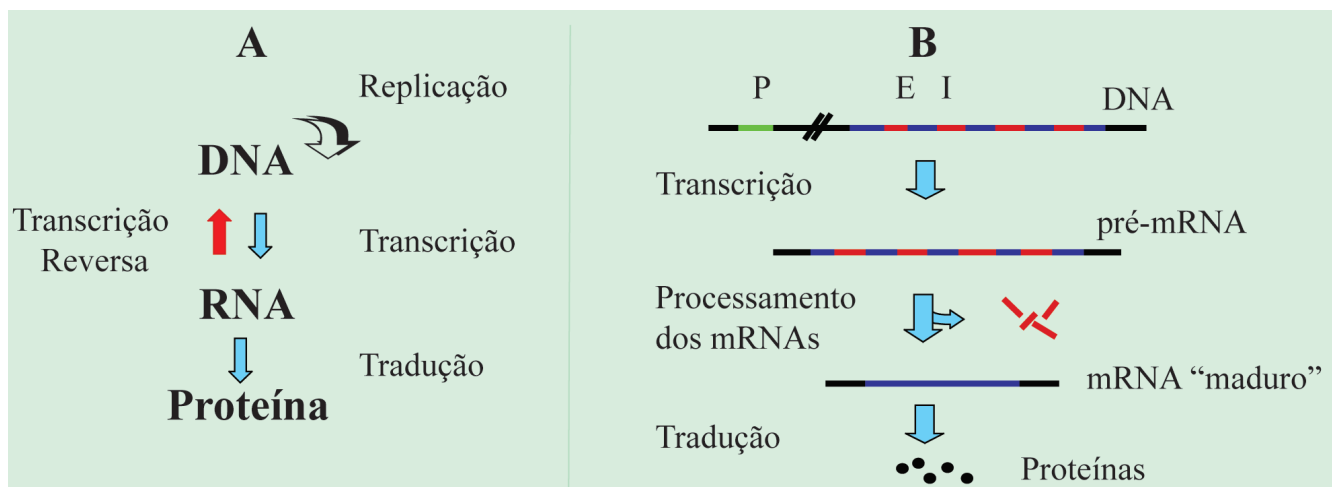


FIGURA 1: (A) Esquema representando o dogma central da biologia molecular (B) Representação da estrutura de um gene e processamento do RNA transcrito. Região promotora em verde (P), éxons em azul (E), íntrons em vermelho (I)

lizadoras de crescimento que, ao se tornar mutadas (oncogenes), ficam perpetuamente “ligadas”, gerando a amplificação dos sinais de crescimento celular, suplantando os controles normais impostos pela homeostase celular.

Os oncogenes são em geral geneticamente dominantes, sendo que a mutação de uma cópia de proto-oncogene é suficiente para produzir o fenótipo. São exemplos de proto-oncogenes os genes N-RAS, H-RAS, K-RAS e c-MYC.^{3,17}

Enquanto os proto-oncogenes promovem o crescimento celular, existe uma classe de genes, denominados genes supressores de tumor, que atua inibindo o ciclo de divisão das células. Ao contrário dos oncogenes, que podem atuar na carcinogênese pela alteração de apenas um alelo ocasionando ganho de função (efeito dominante), para os genes supressores de tumor é necessário que ocorra a perda de função dos dois alelos, caracterizando, portanto, efeito recessivo. Os genes supressores de tumor atuam regulando negativamente os sinais de crescimento celular, permitindo o reparo do DNA. Eles atuam no controle e na parada do ciclo celular, podendo também disparar o processo de morte celular programada (apoptose).¹⁸

É fato bem estabelecido que o acúmulo de alterações gênicas pode levar ao desenvolvimento do câncer. Esse fenômeno tem sido extensivamente investigado por vários autores, principalmente no câncer colorretal, cujo modelo é considerado ideal para a compreensão do processo carcinogênico, devido à progressão da pré-malignidade para malignidade. A maioria dos cânceres surge da inativação mutacional dos genes supressores ou da ativação de oncogenes.¹⁹

O quadro 1, adaptado de Fearon e Vogelstein,²⁰ explica a seqüência de mutações genéticas que ocor-

re na evolução para o câncer colorretal envolvendo os genes APC, K-RAS, DCC e TP53.²⁰ O modelo apresentado sugere os passos envolvidos na transformação maligna das células de cólon, exemplificando como atuam os oncogenes e genes supressores durante tal processo.

Assim como o conhecimento dos processos que culminam com o desenvolvimento do câncer colorretal pode contribuir para melhores aplicações clínicas, seja para diagnóstico ou prognóstico, o estudo dos processos envolvidos na tumorigênese de CBCs e CECs poderá atingir os mesmos objetivos no futuro.

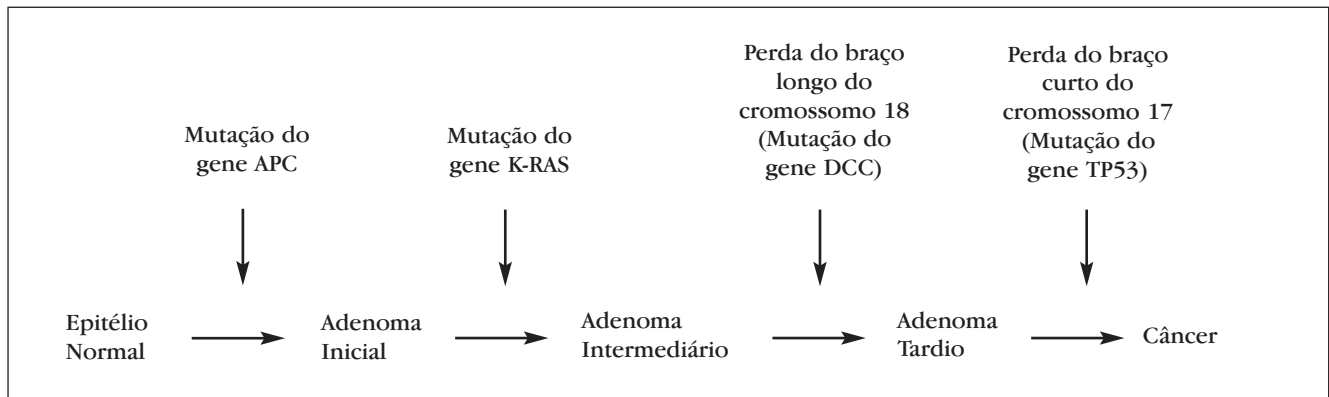
O envolvimento de alguns oncogenes e genes supressores de tumor no desenvolvimento de cânceres e síndromes relacionadas, como melanoma,^{21,22} CBC,²³ neuroblastoma,²⁴ o de pâncreas,²⁵ o de ovário,^{26,27} o de cólon não poliposo,²⁸ SNBC,²⁹ retinoblastoma,³⁰ síndrome de Li-Fraumeni,³¹ múltiplos cânceres esporádicos,³² entre outros, estão representados nos quadros 2 e 3.

A proteína p53 e os inibidores do ciclo celular

Quando ocorrem danos no DNA, desencadeiam-se nas células mecanismos bioquímicos capazes de reparar tais lesões. Para que tal processo ocorra é necessário que a célula pare o ciclo celular a fim de não perpetuar a mutação, acione o sistema de reparo e, caso ocorram falhas nesses processos, promova a morte da célula. A evolução conseguiu atribuir todas essas funções a um determinado gene, o TP53.

Devido a sua importância, a proteína p53 expressa por esse gene tem sido normalmente referida como “guardião do genoma”. Mutações no gene TP53 estão entre as mais freqüentes alterações encontradas no câncer.³³ O gene TP53 exerce efeito antipro-

QUADRO 1: Modelo mostrando as mutações genéticas que ocorrem na progressão de adenoma para carcinoma colorretal*



*modificado de Fearon et al.²⁰

QUADRO 2: Exemplos de oncogenes e tipos de tumores associados a seu ganho de função

Gene	Tipos de tumores associados
MYC	Linfoma de Burkitt, Câncer de pulmão e de mama
BRAF	Melanoma
GLI1	Carcinoma basocelular
K-RAS	Melanoma
N-MYC	Neuroblastoma
ABL	Leucemia mieloide crônica

liferação em resposta a uma variedade de estímulos diferentes, incluindo os danos ao DNA. O conceito atual é que a p53 previne a duplicação celular quando uma lesão no DNA tenha acontecido, permitindo assim que enzimas de reparo atuem na correção dos erros. Porém, quando tais erros são irreparáveis, a p53 pode ativar vias apoptóticas, levando a célula à morte.³⁴

A proteína p53 não funcionando devido a mutações é incapaz de inibir a divisão celular na presença de danos, permitindo a proliferação de células com erros, cujo acúmulo pode levar à ativação de oncogenes ou perda da função dos genes supressores de tumor. Perda funcional da p53 pode também inibir a apoptose e assim aumentar a sobrevivência de células alteradas.⁸

Mutações no gene TP53, tipicamente induzidas por UV (trocas de nucleotídeos de C→T e CC→TT), podem ser encontradas em até 60% dos CBCs.³² Ainda não foi demonstrado o papel causal da frequência dessas mutações no desenvolvimento do CBC.

QUADRO 3: Exemplos de genes supressores e tipos de tumores associados a sua perda de função

Gene	Tipos de tumores associados
APC	Câncer colorretal esporádico e familiar Câncer gástrico e pancreático
BRCA1/BRCA2	Câncer de mama esporádico e familiar Câncer de ovário
MSH2	Câncer de cólon não poliposo
PTCH	Carcinoma basocelular esporádico e SNCBC*
RB	Retinoblastoma esporádico e familiar
TP53	Múltiplos tumores esporádicos Síndrome de Li-Fraumeni

* Síndrome de nevo basocelular

Pacientes com a síndrome de Li-Fraumeni (mutações herdadas de TP53) são susceptíveis a uma incidência aumentada de tumores internos, embora não tenha sido descrito aumento de incidência de cânceres cutâneos nesses pacientes. Alguns autores têm sugerido que mutações no TP53 em CBCs seriam eventos secundários, ocorrendo após a iniciação do tumor.³⁵

Estudos recentes do gene TP53 demonstraram mutações do tipo “assinaturas de UV”, isto é, conversões predominantes de C(C)→T(T). Trinta e três por cento de pacientes com CBC, de origem coreana, apresentavam mutações em p53,³⁶ que, em pacientes caucasianos, chegavam a 50%.³⁷ Esses dados sugerem que diferenças étnicas ainda desconhecidas podem exercer função na carcinogênese de CBCs, mesmo que padrões diferentes de exposição solar possam também apontar para as diferenças observadas.³⁵

Estudos preliminares sugeriam que pelo menos 90% dos CECs e 50% dos CBCs apresentavam mutações nesse gene.³⁸ Atualmente sabe-se que cerca de 50% de todos os cânceres cutâneos estão mutados, aumentando a frequência para até 90% quando a malignidade surge em pacientes com doença genética recessiva denominada xeroderma pigmentoso (XP).³⁹ A maioria das mutações que ocorrem no TP53 em CECs é de “assinatura UV”, ou seja, indicativa de mutações induzidas pela radiação UV.^{40,41}

Recentemente foi proposto que *hot spots* mutacionais no códon 177 do gene TP53 sejam específicos para o CBC, enquanto mutações no códon 278 parecem ser específicas para o CEC cutâneo.⁴²

Apesar dessas evidências, a compreensão das mutações específicas do gene TP53 ainda permanece como um objetivo a ser alcançado para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento dos cânceres cutâneos.

Mutações precoces e primárias no gene TP53 são encontradas nos queratinócitos epidérmicos^{9,11} e podem ser detectadas por imuno-histoquímica.

Sugere-se que aproximadamente 10% de lesões pré-cancerosas induzidas pela exposição solar como, por exemplo, as QAs, podem sofrer transformação em CEC,⁴³ e não é surpresa, então, que mutações do gene TP53, em particular do tipo UV, sejam frequentemente encontradas em QAs.

A doença de Bowen (DB), também conhecida como carcinoma *in situ*, representa estágio pré-invasivo do CEC cutâneo. Tanto a QA como a DB podem ser imuno-positivos quanto à p53,⁴⁴ sendo que esse estado precursor também é sugerido em estudos moleculares e citogenéticos.⁴⁵⁻⁴⁷

Outras proteínas como a p16,^{INK4} que são inibidoras do ciclo celular também têm importante papel na transformação epitelial. Em células normais, esse inibidor da cinase dependente de ciclina (CDK) impe-

de especificamente a progressão para a fase G1 do ciclo celular, bloqueando a CDK-4 que assim não fosforila a proteína retinoblastoma (*rb*).⁴⁸ O lócus INK4a também codifica outro supressor tumoral estrutural e funcionalmente independente,⁴⁹ *p14^{ARF}*. A *p14^{ARF}* ativa a via *p53* em resposta a sinais de oncogenes como c-MYC ou RAS, pela ligação ao regulador negativo da *p53* (*Mdm2*), prevenindo assim a degradação de *p53* e, em consequência, induzindo a parada do ciclo celular ou apoptose.

Discute-se o fato de que mutações na *p16^{INK4}* podem ser eventos tardios no desenvolvimento dos cânceres cutâneos⁵⁰ e que a presença de perda de heterozigiosidade (LOH, *loss of heterozygosity*), incluindo perdas de partes inteiras do 9p, é frequentemente observada em CECs.^{51,52} Entretanto, dois estudos imuno-histoquímicos atuais que avaliaram a expressão da *p16^{INK4}* em QAs, DB (CIS) e CEC de pele mostraram resultados controversos.^{53,54} Mortier e colaboradores sugeriram que a progressão de QA para CEC está relacionada à deleção de 9p21, lócus do gene CDKN2A, codificador da *p16*.⁵⁵

Papel do gene *patched* no desenvolvimento do CBC

Dois genes *patched* (PTCH), localizados em 9q22.3 (PTCH 1) e 1p32 (PTCH 2), foram relacionados ao CBC. A identificação de mutações nesses genes, especialmente PTCH 1, como causa da SNBC, tem contribuído para melhor entendimento da origem do CBC. A SNBC é doença autossômica caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplos CBCs, entre outras anomalias.⁵⁶ Mutações no PTCH e em genes associados têm sido demonstradas também em CBCs esporádicos.⁵⁷

Patched é um receptor para ligantes da família de proteínas hedgehog (hh) e está localizado na membrana plasmática das células.⁵⁸ Tais proteínas são importantes na modelagem de tecidos humanos durante o período embrionário. A ligação de “hh” a “*ptch*” induz a liberação e ativação de outra proteína localizada na membrana, denominada *smoothned*, expressa pelo gene SMO. A ativação de *smoothned*, por sua vez, ativa o fator de transcrição Gli1, o qual induz a transcrição de diversos genes⁵⁶ (Figura 2).

Contudo, mesmo existindo grande evidência relacionando a desregulação da via *ptch* à gênese do CBC, é pouco conhecida a maneira como esse defeito celular exerce seu efeito tumorigênico.

Todas as células de pacientes com a SNBC apresentam mutação em um dos alelos PTCH. Uma segunda mutação ou perda de heterozigiosidade nessa região é observada nos tumores desses pacientes. Alterações similares têm sido identificadas em muitos CBCs esporádicos, e as mutações são aquelas tipicamente induzidas pela radiação UV. Aumento na expressão de mRNA de PTCH sugere que mutações nesse gene são causais no desenvolvimento tumoral e não simplesmente um marcador do efeito do UV. Modelos de animais transgênicos também sugerem que mutações nessa via contribuem significativamente para a formação de CBCs.⁵⁹

A desregulação da via *ptch* não explica os diferentes subtipos histológicos do CBC nem seus diferentes comportamentos *in vivo*. Como o desenvolvimento tumoral é um processo de diversos passos, espera-se que a alteração de outros genes esteja envolvida na carcinogênese do CBC.

Percebe-se então que tanto a atuação do TP53 quanto a do PTCH contribuem para evitar o desenvolvimento do CBC, caracterizando-os assim como genes supressores de tumor.

Ao se observar atentamente a figura 2, vê-se que dois genes (SMO e GLI1) que participam da via *ptch* são proto-oncogenes. Caso ocorram mutações de ganho de função em um deles ou ambos, o processo de tumorigênese de CBC pode ser disparado, pois sua ativação leva à transcrição de genes que favore-

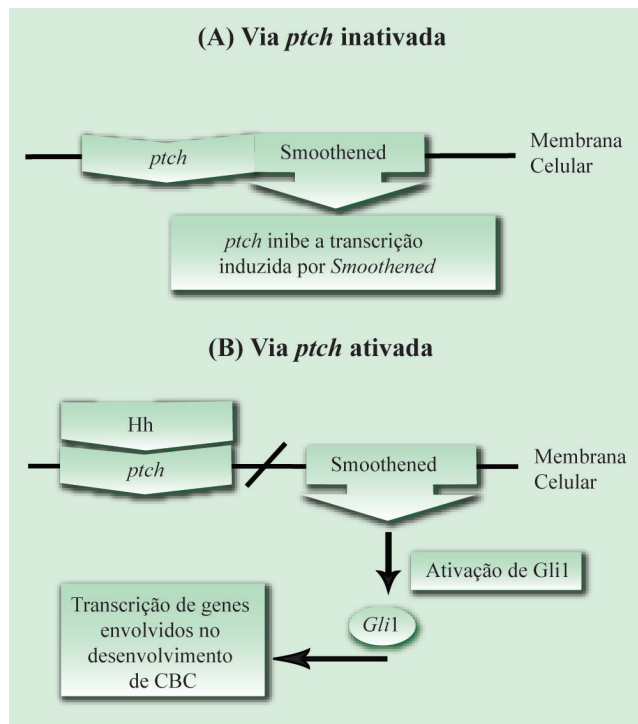


FIGURA 2: Mecanismos de sinalização de *Patched* (*ptch*)/*Smoothned* (*smo*) (A) na ausência de *hedgehog* (*hb*), *smo* é “seqüestrada” por *ptch*, receptor de membrana das células basais da epiderme, não ocorrendo portanto sinalização intracelular (B) na presença de *hb*, esta se liga a *ptch*, o que por sua vez leva à liberação de *smo*. A liberação de *smo* ativa *Gli1*, que age na transcrição de diversos genes envolvidos na progressão tumoral de CBCs. Mutações em *ptch* acabam ocasionando liberação de *smo* sem a presença de *hb*. (Modificado de Dicker et al.⁵⁶)

cem o crescimento celular.

Contudo, a revisão da literatura demonstra até o momento apenas um artigo sobre o possível papel de mutações de GLI1 em CBC, não tendo sido encontrada nenhuma mutação nos casos estudados.⁶⁰ Os mesmos autores encontraram somente 10% de mutações no gene SMO.

Em outros oncogenes, como BRAF,⁶¹ N-RAS, K-RAS e c-MYC,⁴² nenhuma ou poucas mutações foram encontradas em CBCs, sugerindo que esses genes podem não estar envolvidos no desenvolvimento dessa neoplasia.

Participação do DNA extragênico no câncer

Enquanto 10% do genoma humano é representado por genes, 90% corresponde a seqüências de DNA com diferentes níveis de repetição. Dependendo de sua localização no genoma, as seqüências repetitivas têm influência na organização da cromatina e na regulação da expressão gênica. Além disso, têm papel fundamental nos rearranjos entre seqüências que levam ao desenvolvimento de inúmeras doenças e na evolução dos genomas e espécies. Alterações nessas seqüências levam à instabilidade genômica observada particularmente em diferentes tipos de câncer. Dentre as seqüências repetitivas de importância no estudo dos cânceres de pele destacam-se os microssatélites,⁶² que são curtas seqüências repetitivas de um a seis nucleotídeos, localizadas em sítios bem definidos ao longo do genoma dos organismos eucariotes incluindo o ser humano. Muitos microssatélites localizam-se próximo a importantes oncogenes e genes supressores, o que tem levado ao grande interesse dessas regiões como marcadores genéticos.^{63,64}

O DNA de células tumorais geralmente apresenta alterações no número de unidades repetidas

em um ou mais microssatélites quando comparados aos mesmos microssatélites existentes em amostras de DNA de um tecido normal do mesmo indivíduo.⁶⁵ Essas células tumorais também podem apresentar “impressões digitais” defeituosas em seu DNA quando comparadas aos outros tecidos normais do organismo.⁶⁶ Essas “impressões” são referentes a seqüências situadas entre repetições distribuídas ao longo de todo o genoma, detectadas pela técnica RAPD (*random amplification of polymorphic DNA*) e caracterizam a instabilidade genética. As alterações que culminam com o aumento ou diminuição do número de repetições são denominadas instabilidade de microssatélites (MSI, *microsatellite instability*) (Figura 3), enquanto a perda completa de um microssatélite é conhecida como perda de heterozigidade (LOH, *loss of heterozygosity*). O fato de ocorrer MSI nos alelos tumorais é um indicador direto de que falhas ocorrem durante a replicação celular e estas não foram devidamente corrigidas, evidenciando portanto alteração no número de repetições nestes alelos.

Alterações em 12 de 18 microssatélites foram encontradas em CBC, sendo que duas se localizavam próximo aos genes supressores MSH2 e TP53.⁶⁷ Altas freqüências de alterações também são vistas em microssatélites próximos ao gene *Patched*.⁶⁸ Recentemente foram demonstradas 60% de alterações no microssatélite D6S251, na região 6q14, em CBCs herdados e esporádicos.⁶⁹ Um estudo mais detalhado usando o D6S251 indicou que 23% dos CBCs esporádicos exibiram LOH e MSI. Todos os CBCs com alguma instabilidade eram de alto risco histológico (46%). Entretanto, não foram encontradas alterações no microssatélite D6S252, localizado em 6q1670 (dados não publicados).

Análises do cariótipo de tumores demonstram

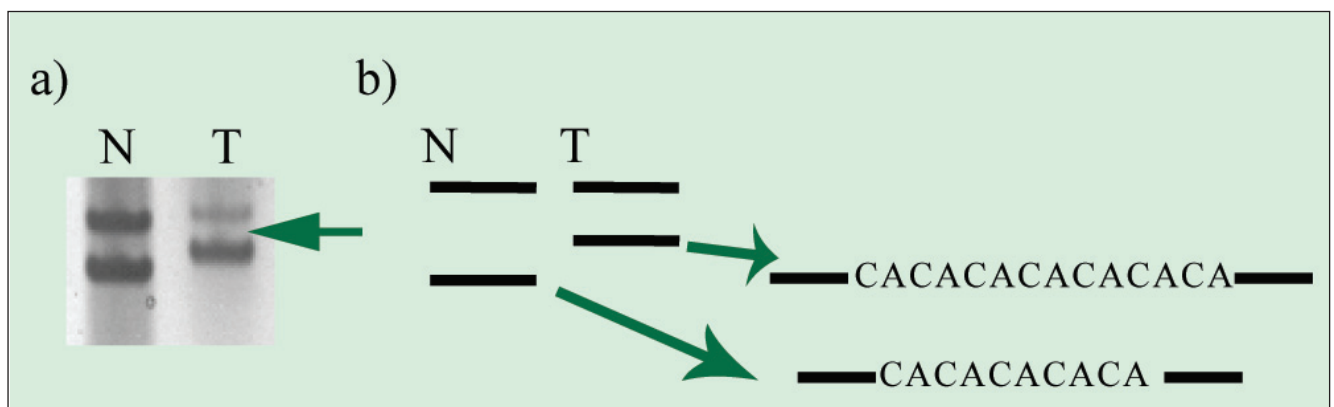


FIGURA 3: Instabilidade de microssatélites em CBC (A) Visualização experimental da alteração em um dos alelos do microssatélite D6S251 em CBC (modificado de Francisco et al.⁶⁹). A seta indica o alelo que sofreu alteração, demonstrando padrão diferente do respectivo alelo no tecido normal (B) Representação esquemática da alteração descrita. O padrão alterado observado foi causado por aumento nas repetições existentes nos microssatélites, nesse caso de CAs. A ocorrência de tais instabilidades serve de evidência indireta, ou seja, é marcadora de outras possíveis alterações em regiões próximas a tais microssatélites

grandes alterações, seja no número de cromossomos (ganho ou perda), seja nos rearranjos entre os cromossomos. A análise de determinados microssatélites também tem valor nesse tipo de informação, tendo sido usada para mapear regiões cromossômicas contendo genes envolvidos no desenvolvimento de CBC, em que são particularmente altas as perdas de regiões próximas ao gene PTCH.⁴²

Papel do UV no desenvolvimento dos CCNM

Apesar de o UVA ser o mais abundante (90%), o UVB é cerca de mil vezes mais eficiente em causar queimaduras na pele. A exposição da pele ao UV afeta a sobrevivência e proliferação de células epidérmicas e dérmicas e altera várias funções cutâneas.⁷¹ Os efeitos agudos da exposição ao UV são os mais adversos e incluem lesão no DNA, apoptose, eritema, imunossupressão, envelhecimento e câncer.⁷²

Um dos principais efeitos do UV no desenvolvimento do câncer está no dano direto ao DNA. A absorção do UVB pelo DNA pode causar dois tipos de lesões, os fotoprodutos 6-4 e os dímeros de pirimidinas ou ciclobutanos. Os danos são causados por ligação errônea de duas pirimidinas na mesma fita de DNA. Em vez de ocorrer o pareamento clássico AT ou GC, as bases podem ligar-se por meio de CC, TT ou CT. Dímeros de pirimidina são considerados mais carcinogênicos do que fotoprodutos 6-4, formando-se cerca de três vezes mais e sendo menos eficientemente reparados.⁷³ Ambos os tipos de lesão podem levar a mutações genéticas, tais como transições C→T e CC→TT. UVB pode causar também transversões de C→A e G→T, além de quebras no DNA, em fita simples e dupla.⁷⁴

Outros tipos de lesão que podem acometer o DNA são aqueles ocasionados por espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*) as quais são geradas por excessiva exposição ao UV,⁷⁵ caracterizando assim um efeito indireto da radiação. Essas moléculas podem levar à formação de adutos nas bases que compõem a molécula de DNA causando pareamentos errôneos e dessa maneira podem levar a mutações e rearranjos cromossômicos que podem levar ao câncer.

Importância do sistema de reparo de danos do DNA nos CCNM

O desenvolvimento de cânceres cutâneos tem sido freqüentemente observado em pacientes portadores de XP. Tal doença é caracterizada por mutações deletérias nos genes envolvidos no sistema de reparo a danos no DNA, com marcada redução na capacidade de suas células em reparar mutações potencialmente carcinogênicas, sobretudo as causadas por UV, tornando assim seus portadores altamente fotossensíveis

e predispostos ao câncer de pele. Poderiam polimorfismos, ou seja, variações genéticas nesses genes na população, contribuir para maior susceptibilidade a essas neoplasias?

Baseando-se nessa questão muitos pesquisadores têm desenvolvido estudos de caráter epidemiológico buscando avaliar a maior ocorrência de certos polimorfismos em casos de câncer em comparação a controles.⁷⁶ Diferentemente de mutações que são raras e demonstram alta penetrância e pouca influência de fatores ambientais, os polimorfismos são mais freqüentes na população. Além disso, funcionam como fatores de baixa penetrância e podem apresentar susceptibilidade variável a fatores ambientais de risco, como, por exemplo, exposição ao UV.⁷⁷

Estudos demonstraram que, enquanto pacientes de origem escandinava com determinado genótipo quanto ao gene de reparo XPD (no caso homozigotos “dominantes” e heterozigotos)⁷⁸ possuíam maior risco de desenvolverem CBCs, numa população americana indivíduos com o genótipo homozigoto “recessivo” demonstravam maior susceptibilidade a esse tipo de neoplasia cutânea.⁷⁹ Essa diferença demonstra que fatores ambientais e genéticos de certa população influenciam na contribuição de um determinado polimorfismo no desenvolvimento de tumores.

Quebras na estrutura da molécula de DNA também são decorrentes da ação UV, sendo que tais fenômenos são responsáveis por aberrações cromossômicas características em tumores cutâneos como, por exemplo, o CBC. O reparo dessas lesões fica a cargo de outra via de reparo, também formada por diversos genes, os quais também apresentam polimorfismos já descritos. Recentemente foi demonstrado que a combinação de certos polimorfismos aumenta o risco de desenvolvimento de CECs ($p < 0,05$) e principalmente de CBCs ($p < 0,0001$).⁸⁰ Reforçando essa hipótese, um estudo *in vitro* mostrou significativo número de quebras de cromossomos em linfócitos de pacientes diagnosticados com CECs e CBCs quando expostos ao UV.⁸¹

Ao contrário de outros tipos de neoplasia, em que polimorfismos em genes de reparo têm demonstrado forte risco relativo associado, nos CCNMs esses estudos são escassos. Diante da variedade de polimorfismos existentes, estudos epidemiológicos do tipo caso-controle bem conduzidos, em que se avaliassem tanto os fatores ambientais envolvidos, como padrão de exposição solar e demais fatores de risco, quanto as variantes polimórficas de genes de reparo, poderiam ser de grande utilidade no sentido de se identificarem possíveis grupos de risco para o desenvolvimento dessas neoplasias.

O papel do vírus do papiloma humano (HPV) nos CCNMs

A ação do vírus HPV, assim como as mutações, anulam a função da proteína p53 nos cânceres cutâneos humanos, fato esse recentemente revisado de modo extensivo.⁸² De mais de 100 subtipos identificados de HPV, apenas um pequeno subgrupo, denominado HPV mucotrópico de alto risco (HPV tipos 16, 18, 31, 33,35 e 58), tem sido responsabilizado pelo desenvolvimento do câncer cervical. O gene E6 desses HPVs de alto risco pode induzir rápida degradação proteossomal da p53, abolindo a parada do ciclo celular ou a apoptose. Assim como em carcinomas cervicais, DNA de HPV é freqüentemente detectado em carcinomas cutâneos, sendo que mais de 40 subtipos foram identificados,⁸³ mas não são de alto risco.⁸⁴ Tem sido sugerido que mecanismos diferentes dos que ocorrem no câncer genital possam estar envolvidos na transformação neoplásica maligna cutânea.⁸⁵

Recentemente foi detectado HPV-38 em 50% de carcinomas cutâneos e 10% de peles sãs, podendo ser responsável pela longevidade/imortalização de queratinócitos humanos em cultura.⁸⁶ Outro estudo demonstrou que o DNA do HPV-38 estava presente em 43% de QAs, bem como em 13% e 16% de CECs e CBCs, respectivamente.⁸⁷ Além disso, acredita-se que vários tipos de HPV estejam envolvidos na epidermodisplasia verruciforme.⁸⁸

Alterações moleculares e citogenéticas nos CCNMs

Pela análise citogenética e hibridização genômica comparativa que permitem avaliar um painel amplo de ganhos e perdas,⁸⁹ os CECs mostraram gran-

de heterogeneidade citogenética, com perfil de alterações mais complexo do que o das QAs e queratoacantomas.^{47,51,90,91} Muitas alterações estruturais afetando regiões centroméricas, em especial nos cromossomos 3, 5, 8 e 9 foram encontradas nos CECs.⁴⁷ Foram também observados clones celulares geneticamente não relacionados dentro de um mesmo tumor, o que sugere desenvolvimento multifocal em cânceres cutâneos. A detecção de LOH em marcadores localizados em 9p é freqüente, enquanto em 9q ocorre em apenas 12% dos CECs.⁵² LOH pode ocorrer também em outras regiões do genoma, como 3p, 13p, 17p e 17q.⁴⁵

CONCLUSÕES

Apesar da ampliação do conhecimento atual sobre a genética molecular dos dois principais tipos de CCNM, ainda se sabe pouco sobre o papel dos inúmeros oncogenes, genes supressores e vias de transdução de sinal na gênese e no desenvolvimento dessas neoplasias.

Os CCNMs apresentam muitas alterações, nos níveis gênico e cromossômico. A principal causa de desenvolvimento do CBC foi associada à via *patched/sonic-hedgehog*. A utilização de drogas que revertam os efeitos das mutações oncogênicas do SMO e PTCH, como a substância ciclopamina, poderá num futuro próximo auxiliar no tratamento dos diversos fenótipos de CBC.

A compreensão dos mecanismos que promovem instabilidade genômica, como ganhos ou perdas de seqüências e translocações cromossômicas, pode, num futuro próximo, não só auxiliar no estadiamento tumoral como também no estabelecimento de novas terapias que irão beneficiar milhões de doentes diagnosticados anualmente em todo o mundo. □

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério de Saúde. Incidência de Câncer no Brasil-Estimativa 2006 [homepage]. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer; 2005 [acesso 16 Jul 2006]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2006>.
2. Ratner D, Peacocke M, Zhang H, Ping XL, Tsou HC. UV-specific p53 and PTCH mutations in sporadic basal cell carcinoma of sun-exposed skin. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:293-7.
3. Tsao H. Genetics of nonmelanoma skin cancer. *Arch Dermatol*. 2001;137:1486-92.
4. Preston DS, Stern RS. Nonmelanoma cancers of the skin. *N Engl J Med*. 1992;327:1649-62.
5. Ananthaswamy HN, Pierceall WE. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Photochem Photobiol*. 1990;52:1119-36.
6. Grossman D, Leffell DJ. The molecular basis of non melanoma skin cancer: new understanding. *Arch Dermatol*. 1997;133:1263-70.
7. Cabrera T, Garrido U, Concha A, Martin J, Esquivias J, Oliva MR, et al. HLA molecules in basal cell carcinoma of the skin. *Immunology*. 1992;185:440-52.
8. Saldanha G, Fletcher A, Slater DN. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol*. 2003;148:195-202.
9. Nakazawa H, English D, Randell PL, Nakazawa K, Martel N, Armstrong BK, et al. UV and skin cancer: specific p53 gene mutation in normal skin as a biologically relevant exposure measurement. *Proc Natl Acad Sci*. 1994;91:360-4.
10. Jonason AS, Kunala S, Price GJ, Restifo RJ, Spinelli HM, Persing JA, et al. Frequent clones of p53-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93:14025-9.
11. Ling G, Persson A, Berne B, Uhlen M, Lundeberg J, Ponten F. Persistent p53 mutations in single cells from normal human skin. *Am J Pathol*. 2001;159:1247-53.
12. Lupi O, Castañón MCN, Luiz FB, Pereira Jr AC. Carcinoma Espinocelular. In: Neves RG, Lupi O, Talhari S, editores. *Câncer da pele*. Rio de Janeiro: Medsi; 2001. p.178-81.
13. Beiguelman B. *Citogenética humana*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1982.
14. Lewin B. *Genes VIII*. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Prentice Hall; 2004. 1027p.
15. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291:1304-51.
16. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Bray D, Hopkin K, et al. *Biologia molecular da célula*. 4 ed. Brasília: Artmed; 2004. 1584p.
17. Louro ID, Llerena Jr JC, Melo MSV, Ashton-Prolla P, Conforti-Froes N. *Genética molecular do Câncer*. São Paulo: MSG; 2002. 275p.
18. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Câncer. In: H Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J, editores. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter Ltda; 2002. p.1063-9.
19. Lawes DA, SenGupta S, Boulos PB. The clinical importance and prognostic implications of microsatellite instability in sporadic cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29:201-12.
20. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61:759-67.
21. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR, Nair RP, Soengas MS, Johnson TM, et al. BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res*. 2006;16:267-73.
22. Kraehn GM, Schartl M, Peter RU. Human malignant melanoma. A genetic disease? *Cancer*. 1995;75:1228-37.
23. Hatta N, Hirano T, Kimura T, Hashimoto K, Mehregan DR, Ansai S, et al. Molecular diagnosis of basal cell carcinoma and other basaloid cell neoplasms of the skin by the quantification of Gli1 transcript levels. *J Cutan Pathol*. 2005;32:131-6.
24. Grandinetti KB, Spengler BA, Biedler JL, Ross RA. Loss of one HuD allele on chromosome #1p selects for amplification of the N-myc proto-oncogene in human neuroblastoma cells. *Oncogene*. 2006;25:706-12.
25. Beroud C, Soussi T. APC gene: database of germline and somatic mutations in human tumors and cell lines. *Nucleic Acids Res*. 1996;24:121-4.
26. Rosen EM, Fans S, Pestell RG, Goldberg JD. BRCA1 gene in breast cancer. *J Cell Physiol*. 2003;196:19-41.
27. McCoy ML, Mueller CR, Roskelley CD. The role of the breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) in sporadic epithelial ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:72.
28. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell*. 1994;75:1027-38.
29. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, et al. Human homolog of patched, a candidate for the basal cell nevus syndrome. *Science*. 1996;272:1668-71.
30. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci*. 1971;68:820-3.
31. Malkin D. Germline p53 mutations and heritable cancer. *Annual Rev Genet*. 1994;28:443-65.
32. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutation in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res*. 1994;54:4855-78.
33. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*. 1997;88:323-31.
34. Oliveira AM, Ross JS, Fletcher JA. Tumor suppressor genes in breast cancer: the gatekeepers and the care takers. *Am J Clin Pathol*. 2005;124(Suppl):S16-28.

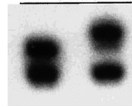
35. Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, Neumann HA, Ramaekers FC. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2005;152:1108-24.
36. Kim MY, Park HJ, Baek SC, Byun DG, Houh D. Mutations of the p53 and PTCH gene in basal cell carcinomas: UV mutation signature and strand bias. *J Dermatol Sci.* 2002;29:1-9.
37. Demirkan NC, Colakoglu N, Duzcan E. Value of p53 protein in biological behavior of basal cell carcinoma and in normal epithelia adjacent to carcinomas. *Pathol Oncol Res.* 2000;6:272-4.
38. Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J Invest Dermatol.* 1996;1:136-42.
39. Giglia-Mari G, Sarasin A. TP53 mutations in human skin cancers. *Hum Mutat.* 2003;21:217-28.
40. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, Simon JA, Sharma HW, Kimmelman J, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature.* 1994;372:773-6.
41. Tornaletti S, Pfeifer GP. Slow repair of pyrimidine dimers at p53 mutation hotspots in skin cancer. *Science.* 1994;263:1436-8.
42. Boukamp P. Non-melanoma skin cancer: what drives tumor development and progression? *Carcinogenesis.* 2005;26:1657-67.
43. Johnson TM, Rowe DE, Nelson BR, Swanson NA. Squamous cell carcinoma of the skin (excluding lip and oral mucosa). *J Am Acad Dermatol.* 1992;26:467-84.
44. Kanjilal S, Strom SS, Clayman GL, Weber RS, El Naggar AK, Kapur V, et al. P53 mutations in nonmelanoma skin cancer of the head and neck: molecular evidence for field cancerization. *Cancer Res.* 1995;55:3604-9.
45. Rehman I, Takata M, Wu YY, Rees JL. Genetic change in actinic keratoses. *Oncogene.* 1996;12:2483-90.
46. Quinn AG, Sikkink S, Rees JL. Basal cell carcinomas and squamous cell carcinomas of human skin show distinct patterns of chromosome loss. *Cancer Res.* 1994;54:4756-9.
47. Jin Y, Jin C, Salemark L, Wennerberg J, Persson B, Jonsson N. Clonal chromosome abnormalities in premalignant lesions of the skin. *Cancer Genet Cytogenet.* 2002;136:48-52.
48. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature.* 1993;366:704-7.
49. Sherr CJ. Principles of tumor suppression. *Cell.* 2004;116:235-46.
50. Soufir N, Ribojad M, Magnaldo T, Thibaudeau O, Delestaing G, Daya-Grosjean L, et al. Germline and somatic mutations of the INK4a-ARF gene in a xeroderma pigmentosum group C patient. *J Invest Dermatol.* 2002;119:1355-60.
51. Popp S, Waltering S, Herbst C, Moll I, Boukamp P. UV-B-type mutations and chromosomal imbalances indicate common pathways for the development of Merkel and skin squamous cell carcinomas. *Int J Cancer.* 2002;99:352-60.
52. Quinn AG, Sikkink S, Rees JL. Delineation of two distinct deleted regions on chromosome 9 in human non-melanoma skin cancers. *Genes Chromosomes Cancer.* 1994;11:222-5.
53. Hodges A, Smoller BR. Immunohistochemical comparison of p16 expression in actinic keratoses and squamous cell carcinomas of the skin. *Mod Pathol.* 2002;15:1121-5.
54. Salama ME, Mahmood MN, Qureshi HS, Ma C, Zarbo RJ, Ormsby AH. P16INK4a expression in actinic keratosis and Bowen's disease. *Br J Dermatol.* 2003;149:1006-12.
55. Mortier L, Marchetti P, Delaporte E, Lassalle ML, Thomas P, Piette F, et al. Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma of the skin correlates with deletion of the 9p21 region encoding the p16ink4a tumor suppressor. *Cancer Lett.* 2002;176:205-14.
56. Dicker T, Siller G, Saunders N. Molecular and cellular biology of basal cell carcinoma. *Australas J Dermatol.* 2002;43:241-6.
57. Gailani MR, Stahle-Backdahl M, Leffell DJ, Glynn M, Zaphiropoulos PG, Pressman C, et al. The role of the human homologue of Drosophila patched in sporadic basal cell carcinomas. *Nat Genet.* 1996;14:78-81.
58. Kalderon D. The mechanism of hedgehog signal transduction. *Biochem Soc Trans.* 2005;33:1509-12.
59. Nilsson M, Unden AB, Krause D, Malmqwist U, Raza K, Zaphiropoulos PG, et al. Induction of basal cell carcinomas and trichoepitheliomas in mice overexpressing GLI-1. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:3438-43.
60. Reifemberger J, Wolter M, Knobbe CB, Kohler B, Schonicke A, Scharwachter C, et al. Somatic mutations in the PTCH, SMOH, SUFUH and TP53 genes in sporadic basal cell carcinomas. *Br J Dermatol.* 2005;152:43-51.
61. Ceckova M, Libra A, Pavek P, Nachtigal P, Brabec M, Fuchs R, et al. Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BEWO. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006;33:58-65.
62. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson Genética Médica.* 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. 400p.
63. Iglesias RA, Kindlund E, Tammi M, Wadelius C. Some microsatellites may act as novel polymorphic cis-regulatory elements through transcription factor binding. *Gene.* 2004;341:149-65.
64. Hussein MR, Wood GS. Microsatellite instability and its relevance to cutaneous tumorigenesis. *J Cutan Pathol.* 2002;29:257-67.
65. Abe Y, Masuda H, Okubo R. Microsatellite instability of each tumor in sporadic synchronous multiple colorectal cancers. *Oncol Rep.* 2001;8:299-304.
66. Pinho M. Câncer colo-retal com instabilidade de microssatélites: uma doença diferente. *Rev Bras An Bras Dermatol.* 2006;81(5):405-19.

- Coloproctol. 2002;22:139-44.
67. Sardi I, Piazzini M, Palleschi G, Pinzi C, Taddei I, Arrigucci S, et al. Molecular detection of microsatellite instability in basal cell carcinoma. *Oncology Rep.* 2000;7:1119-22.
 68. Saridaki Z, Koumantaki E, Liloglou T, Sourvinos G, Papadopoulos O, Zoras O, et al. High frequency of loss of heterozygosity on chromosome region 9p21-p22 but lack of p16INK4a/p19ARF mutations in greek patients with basal cell carcinoma of the skin. *J Invest Dermatol.* 2000;115:719-25.
 69. Francisco G, Festa Neto C, Sanches Jr JA, Ruiz IRG. Genomic instability in basal cell carcinomas. *J Dermatol Sci.* 2005;39:186-8.
 70. Martinez MAR. Estudo das alterações dos microssatélites D6S251 e D6S252 no carcinoma basocelular esporádico [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2006. 78p.
 71. Kadekaro AL, Kavanagh RJ, Wakamatsu K, Ito S, Pipitone MA, Abdel-Malek ZA. Cutaneous photobiology. The melanocyte vs. the sun: who will win the final round? *Pigment Cell Res.* 2003;16:434-47.
 72. Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J Invest Dermatol.* 1996;1:136-42.
 73. You YH, Lee DH, Yoon JH, Nakajima S, Yasui A, Pfeifer GP. Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells. *J Biol Chem.* 2001;276:44688-94.
 74. Cleaver JE, Crowley E. UV damage, DNA repair and skin carcinogenesis. *Front Biosci.* 2002;7:1024-43.
 75. Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol.* 2004;43:326-35.
 76. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11:1513-30.
 77. Wunsch Filho V, Zago MA. Modern cancer epidemiological research: genetic polymorphisms and environment. *Rev Saude Publica.* 2005;39:490-7.
 78. Dybdahl M, Vogel U, Frenzt G, Wallin H, Nexø BA. Polymorphisms in the DNA repair gene XPD: correlations with risk and age at onset of basal cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999;8:77-81.
 79. Vogel U, Hedayati M, Dybdahl M, Grossman L, Nexø BA. Polymorphisms of the DNA repair gene XPD: correlations with risk of basal cell carcinoma revisited. *Carcinogenesis.* 2001;22:899-904.
 80. Han J, Colditz GA, Samson LD, Hunter DJ. Polymorphisms in DNA double-strand break repair genes and skin cancer risk. *Cancer Res.* 2004;64:3009-13.
 81. Wang LE, Xiong P, Strom SS, Goldberg LH, Lee JE, Ross MI, et al. In vitro sensitivity to ultraviolet B light and skin cancer risk: a case-control analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1822-31.
 82. Duensing S, Münger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer.* 2004;109:157-62.
 83. Meyer T, Arndt R, Nindl I, Ulrich C, Christophers E, Stockfleth E. Association of human papillomavirus infections with cutaneous tumors in immunosuppressed patients. *Transpl Int.* 2003;16:146-53.
 84. Pfister H. Human papillomavirus and skin cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;8:52-6.
 85. Meyer T, Arndt R, Christophers E, Nindl I, Stockfleth E. Importance of human papillomaviruses for the development of skin cancer. *Cancer Detect Prev.* 2001;25:533-47.
 86. Caldeira S, Zehbe I, Accardi R, Malanchi I, Dong W, Giarre M, et al. The E6 and E7 proteins of the cutaneous human papillomavirus type 38 display transforming properties. *J Virol.* 2003;77:2195-206.
 87. Forslund O, Ly H, Reid C, Higgins G. A broad spectrum of human papillomavirus types is present in the skin of Australian patients with non-melanoma skin cancers and solar keratosis. *Br J Dermatol.* 2003;149:64-73.
 88. Schaper ID, Marcuzzi GP, Weissenborn SJ, Kasper HU, Dries V, Smyth N, et al. Development of skin tumors in mice transgenic for early genes of human papillomavirus type 8. *Cancer Res.* 2005;65:1394-400.
 89. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992;258:818-21.
 90. Jin Y, Martins C, Jin C, Salemark L, Jonsson N, Persson B, et al. Nonrandom karyotypic features in squamous cell carcinomas of the skin. *Genes Chromosomes Cancer.* 1999;26:295-303.
 91. Popp S, Waltering S, Holtgreve-Grez H, Jauch A, Proby C, Leigh IM, et al. Genetic characterization of a human skin carcinoma progression model: from primary tumor to metastasis. *J Invest Dermatol.* 2000;115:1095-103.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Marcos Antonio Rodrigues Martinez
 Rua Cantagalo, 692 - cj. 814
 03319-000 - São Paulo - SP
 Telefone: (11) 6193-8873 / Fax: (11) 6193-8873
 E-mail: marcosmartinez@uol.com.br

Questões e resultados das questões

1. O conceito correto de gene é:
- um trecho de DNA que obrigatoriamente tem informação para síntese de proteínas
 - um trecho de DNA cuja transcrição primária é um RNA
 - qualquer trecho de DNA, não importando se tal contém informação para RNA ou proteína
 - toda a seqüência de bases do DNA
2. De acordo com o “dogma central da biologia molecular”, o que NÃO pode acontecer?
- Síntese de RNA a partir de DNA
 - Síntese de DNA a partir de RNA
 - Síntese de proteínas a partir de RNA
 - Síntese de proteínas a partir diretamente do DNA
3. A atuação de oncogenes no desenvolvimento de tumores se dá por:
- reparar danos no DNA
 - promover o crescimento celular
 - bloquear a progressão do ciclo celular
 - levar as células à morte celular (apoptose)
4. O quadro abaixo mostra quatro seqüências de DNA
- 1) ATGCAGTACGAAGCAT 3) AAGCCTGCCAATTCTCCCC
 2) GTAATGCTACGATAGG 4) AAGGAAACGTAGTACACGG
- Baseando-se nos conhecimentos dos efeitos mutagênicos da radiação ultravioleta (UV), qual seqüência teria maior probabilidade de vir a apresentar lesões do tipo dímeros de pirimidina?
- 1
 - 2
 - 3
 - 4
5. Um paciente jovem chega ao consultório apresentando diversos tumores cutâneos, entre eles CBCs, CECs e melanoma. Tal indivíduo é diagnosticado como portador de xeroderma pigmentoso. Sabendo que essa é uma doença genética recessiva, que genes deverão estar mutados?
- Genes de reparo
 - Oncogenes
 - Genes envolvidos com morte celular
 - Genes de diferenciação celular
6. Durante intensa exposição solar, inúmeras células podem ter seu DNA lesado. Qual proteína pode contribuir para o reparo dessas lesões ou pode desencadear o processo de morte celular se esse reparo não for eficiente?
- p53
 - Patched
 - BRAF
 - K-RAS
7. Tendo em mente a via de sinalização de Patched e sua contribuição para a carcinogênese de CBCs, o que se poderia esperar de mutações que ATIVASSEM Smoothed?
- Haveria fenótipo parecido com xeroderma pigmentoso
 - Diminuiriam as possibilidades de desenvolver CBCs
 - Aumentariam as possibilidades de desenvolver CBCs
 - Não acarretariam nenhuma implicação no desenvolvimento de CBCs
8. Um pesquisador fez uma análise de microssatélites de uma determinada região cromossômica de diversos casos de um certo tipo de tumor e encontrou alta porcentagem de perda de heteroziguidade (LOH) nessa região. Isso provavelmente indica que:
- tal região está sob influência de p53
 - tal região é local de um proto-oncogene envolvido nessa neoplasia
 - tal região é local de um gene supressor de tumor envolvido nessa neoplasia
 - tal região não possui genes de relevância para a progressão do tumor
9. A figura abaixo representa um tipo de alteração em microssatélites.
- | | |
|---|---|
| N | T |
| 905 | |
|  | |
- Sabendo-se que tecido normal (N) e tumor (T) estão representados acima, podemos apontar tal alteração como:
- instabilidade de microssatélites (MSI), com perda de repetições por parte do tumor
 - instabilidade de microssatélites (MSI), com perda de repetições por parte do tecido normal
 - instabilidade de microssatélites (MSI), com ganho de repetições por parte do tumor
 - instabilidade de microssatélites (MSI), com ganho de repetições por parte do tecido normal

10. Recentes estudos têm buscado relacionar a presença de determinados polimorfismos em importantes genes e o desenvolvimento de alguns tumores.

Esses estudos têm como base teórica:

- a) A idéia de que tais polimorfismos inativam por completo a atividade desses genes
- b) A premissa de que tais polimorfismos desorganizam a estrutura dos cromossomos
- c) A idéia de que tais polimorfismos estão relacionados à ativação de proto-oncogenes
- d) A idéia de que tais polimorfismos contribuem para uma atividade reduzida do gene que normalmente não acarreta problemas, mas que em determinadas situações pode levar a processos como o desenvolvimento do câncer

11. As mutações genéticas podem conferir às células certas características importantes no desenvolvimento do câncer. Essas características podem ser representadas por:

- a) diminuição da capacidade de proliferação, evasão de apoptose, capacidade de gerar metástases e perda da resposta a fatores de inibição de crescimento
- b) perda da resposta a fatores de inibição de crescimento, diminuição da angiogênese, evasão de apoptose, diminuição da capacidade de proliferação
- c) aumento da apoptose, maior resposta a fatores de inibição de crescimento, capacidade de gerar metástases
- d) aumento da capacidade de proliferação, evasão de apoptose, capacidade de gerar metástases e perda da resposta a fatores de inibição de crescimento

12. São considerados genes supressores tumorais:

- a) RB1, MYC, CDKN2A e TP53
- b) PTCH, BCRA1, RB1 e CDKN2A
- c) BRAF, PTCH, CDKN1A e ABL
- d) TP53, RB1, K-RAS E ABL

13. Qual a função principal da proteína p16?

- a) Inibir p53 na fase G2 do ciclo celular
- b) Impedir a progressão para a fase G1, bloqueando CDK-4
- c) Ativar p53 ligando-se à mdm2
- d) Ativar CDK-4 na fosforilação de rb

14. A que se deve a atuação dos proto-oncogenes no crescimento tumoral?

- a) A ativação na fase embrionária atua aproveitando o vigor celular dos organismos jovens
- b) Ação direta na ativação da apoptose, além de manter a proteína RAS ativada
- c) Ao se transformarem em oncogenes, expressam-se sinalizando a multiplicação celular descontrolada
- d) São geneticamente dominantes em relação aos genes supressores de tumor

15. O códon 278 do gene TP53 é considerado hot spot porque é onde ocorrem:

- a) mais mutações específicas para o CBC
- b) mais mutações específicas para o CEC
- c) menos mutações específicas para o CBC
- d) mais mutações específicas para o melanoma

16. Qual a função do vírus HPV nos cânceres cutâneos humanos?

- a) Anular a função da proteína p53
- b) Ativar genes supressores tumorais
- c) Codificar oncogenes
- d) Ativar o gene Patched

17. A sugestão do desenvolvimento multifocal em cânceres cutâneos se deve:

- a) à presença de genes diferentes nas diversas células de um mesmo tumor
- b) ao aparecimento de metástases geneticamente idênticas
- c) à observação de clones celulares não relacionados geneticamente em um mesmo tumor
- d) à contaminação por cepas variadas de HPV

18. A função do processamento do pré-mRNA durante o splicing é importante para:

- a) retirada dos éxons e união dos íntrons, necessários para a síntese de proteínas
- b) retirada dos aminoácidos não pertencentes à proteína
- c) excisão de nucleotídeos codificadores de aminoácidos
- d) retirada dos íntrons e união dos éxons, necessários para a síntese de proteínas

19. No processo denominado tradução,

- a) o mRNA é traduzido em proteínas no ribossomo
- b) o rRNA transforma mRNA em proteínas

- c) o DNA é processado em proteínas
- d) o tRNA é traduzido em proteínas no ribossomo

20. As principais alterações no desenvolvimento de CEC incluem:

- a) perda de 6q, mutações em TP53
- b) LOH em D6S251 e mutações em TP53
- c) perda de 9p e mutações em TP53 e CDKN2A
- d) MSI em D6S251 e mutações em TP53

GABARITO

Manifestações cutâneas decorrentes do uso de drogas ilícitas. An Bras Dermatol. 2006;81(4):307-17.

- | | |
|-------|-------|
| 1. c | 11. a |
| 2. b | 12. a |
| 3. b | 13. b |
| 4. d | 14. b |
| 5. d | 15. d |
| 6. a | 16. c |
| 7. b | 17. a |
| 8. b | 18. b |
| 9. d | 19. b |
| 10. c | 20. b |

Como citar este artigo: Martinez MAR, Francisco G, Cabral LS, Ruiz IRG, Festa Neto C. Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma. An Bras Dermatol. 2006;81(5):405-19.