Universiteit Leiden
The Netherlands

Epigenetic alterations in the predisposition to and progression of melanoma

Salgado, C.

Citation
Salgado, C. (2020, October 21). *Epigenetic alterations in the predisposition to and progression of melanoma*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/137852

Version:	Publisher's Version
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/137852

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

Leiden University Repository

The handle http://hdl.handle.net/1887/137852 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Salgado, C.
Title: Epigenetic alterations in the predisposition to and progression of melanoma
Issue date: 2020-10-21

RESUMO EM PORTUGUÊS

O melanoma é o tipo de cancro de pele mais agressivo e mortal devido à sua capacidade de metastização, o que o torna difícil de controlar.

Quando se fala de cancro, é muito comum ouvir falar de células, cromossomas, DNA, genes e alterações. Os cromossomas estão confinados aos núcleos das nossas células e consistem em longas cadeias de DNA contendo inúmeros genes. As alterações mais comumente descritas em cancro estão relacionadas com alterações na sequência de DNA, mutações, que dificultam a correta produção de proteínas. Estas apresentam diferentes implicações para a célula e podem estar envolvidas na predisposição para cancro.

O QUE SIGNIFICA EPIGENÉTICA?

Além das mutações, os componentes da cadeia de DNA podem ser afetados por diversas modificações com um impacto negativo na geração de uma nova proteína. Ao conjunto destas modificações que afetam o "comportamento" dos componentes do DNA dá-se o nome de "epigenética". O prefixo grego "epi" significa "em cima da" ou "além da" tradicional genética. O termo epigenética foi originalmente proposto por Conrad Waddington em 1942 para descrever os mecanismos moleculares independentes das alterações na sequência de DNA. Existem 3 mecanismos epigenéticos principais: (hidroxi)metilação do DNA (modificações covalentes das bases de DNA); modificações das histonas (modificação pós-traducional de histonas) e remodelação de proteínas (reposicionamento de nucleossomas por complexos proteicos).

Nesta tese de doutoramento, pretendemos investigar o papel das alterações epigenéticas herdadas e adquiridas na suscetibilidade para melanoma e seu desenvolvimento.

Alterações epigenéticas hereditárias podem explicar a predisposição para melanoma numa proporção significativa de famílias com história familiar desta doença, para as quais a causa é ainda desconhecida. Assim, estudámos o papel de uma mutação num potencial gene de suscetibilidade que codifica a metiltransferase do amino-ácido lisina 79 na histona 3. Interessantemente, observámos que esta alteração no gene *DOT1L* co-segrega com melanoma em vários casos da mesma família, enfatizando o seu papel na transmissão da doença. Através de técnicas de biologia celular avaliámos que processos biológicos eram afetados ao incorporar esta alteração em determinadas células. Concluímos, baseados em estudos anteriores e nos nossos próprios resultados, que o estudo desta alteração merece ser mais aprofundado, uma vez que as mutações no gene *DOT1L* parecem afetar a sensibilidade à radiação UV, potenciando a transformação neoplásica. Além disso, investigámos se alterações epigenéticas podem ser a causa de melanoma numa grande proporção de casos familiares para os quais nenhuma causa genética foi apontada.

Diferentes mecanismos epigenéticos foram investigados no DNA de 10 indivíduos de 5 famílias: em particular estudámos 2 indivíduos diagnosticados com melanoma por família, procurando alterações de metilação hereditárias (epimutações) em todos os genes de suscetibilidade para melanoma, investigando perda de imprinting, e ainda avaliando a metilação dos respetivos promotores. Os nossos resultados mostram que epimutações não parecem constituir uma causa plausível de melanoma familiar nestas famílias.

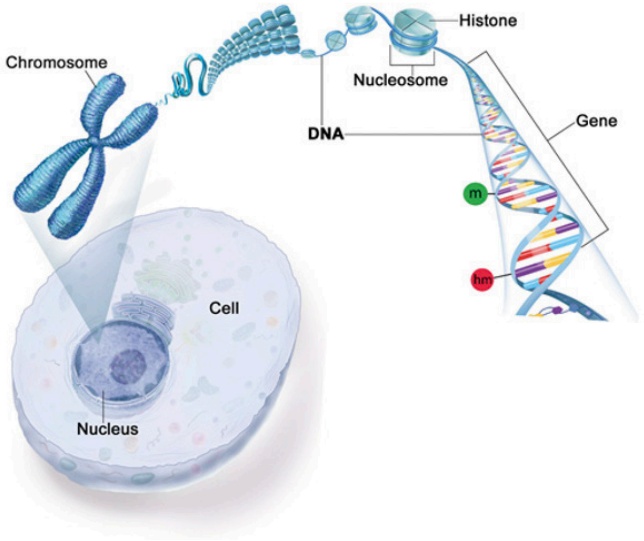

FIGURA. Estrutura de DNA. Os cromossomas estão confinados ao núcleo das células e são longas cadeias de DNA contendo diversos genes. Contém ainda proteínas chamadas histonas que se ligam ao DNA. O DNA é constituído por 4 nucleótidos diferentes (amarelo, vermelho, azul e roxo). A metilação (m) e hidroximetilação (hm) são as alterações epigenéticas representadas [adaptado de © 2015 Terese Winslow LLC, U.S. Govt. has certain rights and Dictionary of Cancer Terms PDQ Cancer Information Summaries, National Cancer Institute (US)].

Analisámos a distribuição genómica da metilação de DNA (m na Figura) e o processo oposto, desmetilação de DNA, também conhecido como hidroximetilação (hm na Figura), em amostras benignas (nevos normais, os comuns sinais na pele) e amostras cancerígenas (melanoma) de diferentes pacientes. O objetivo foi esclarecer como é que a hidroximetilação está envolvida na progressão maligna das células e que processos são, portanto, potencialmente modificáveis. Fomos capazes de identificar regiões genómicas específicas com um significado funcional que podem constituir novos e valiosos biomarcadores de

diagnóstico que parecem contribuir para a evolução de melanoma.

Uma vez que as modificações genéticas e epigenéticas cooperam na promoção da transformação neoplásica, também examinámos de que forma a metilação de DNA e remodelação da cromatina (mecanismos epigenéticos) e mutações do promotor (mecanismos genéticos) contribuem para regulação de um gene essencial na patogénese de melanoma, *TERT*. O gene *TERT* participa no processo de proliferação descontrolada e na prevenção de morte celular, duas características importantes das células neoplásicas. Os nossos resultados sugerem um modelo complexo no qual a expressão do gene *TERT* requer um estado de cromatina descondensada devido à elevada taxa de metilação ao longo do promotor em amostras sem mutações do promotor, ou a combinação de uma fração moderada de metilação/acessibilidade da cromatina em amostras com mutações no promotor (C228T ou C250T) do gene.