

Caracterização de redes de interação protéica associadas ao desenvolvimento do melanoma

MIRIAM SANTOS BORBA¹
KELLY CRISTINA LEITE DA GAMA²
JOSÉ LUIZ RYBARCZYK FILHO³
MAURO ANTÔNIO ALVES CASTRO⁴

RESUMO

O melanoma é uma grave neoplasia maligna de pele, apresenta alta capacidade metastática e predomínio em populações caucasianas, tendo como principal fator de risco a exposição solar. Assim como a maioria das neoplasias sólidas, o melanoma é altamente heterogêneo, possivelmente um reflexo da alta diversidade celular e molecular. Embora não exista nenhum marcador molecular validado para o estadiamento do melanoma, quatro genes são descritos como causalmente associados ao seu desenvolvimento: NRAS, BRAF, ATF1 e CDKN2A. Neste trabalho, utilizando ferramentas de bioinformática, apresentamos um modelo rede de interação protéica capaz de descrever a extensão funcional destes quatro genes, o que pode servir de plataforma de estudo para a identificação de novos genes envolvidos nesta neoplasia.

Palavras-chave: Melanoma, câncer de pele, bioinformática, interação protéica.

ABSTRACT

Melanoma is a severe skin malignancy, presents high metastatic potential and very poor prognosis. It is more prevalent in Caucasian populations and the main risk factor is associated to sunlight exposure due to ultraviolet

¹ Acadêmica do Curso de Biologia/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

² Acadêmica do Curso de Biologia/ULBRA – Voluntária – PRO-ICT/ULBRA

³ Aluno de Pós-graduação do Instituto de Física/UFRGS

⁴ Professor-Orientador do Curso de Biologia/ULBRA (mauro@ufrgs.br)

radiation related damages. Like most solid tumors, the melanoma is highly heterogeneous, possibly reflecting its cellular and molecular diversity. Although there is no validated molecular marker for staging melanoma, four genes are described as causally related to its development: NRAS, BRAF, ATF1 and CDKN2A. In this work, using bioinformatics tools, we present a network-based model of protein-protein interactions in order to describe the functional extent of these four genes. We anticipate that this network model will serve as searching platform for identifying new genes involved in this cancer.

Key words: Melanoma, skin cancer, bioinformatics, protein interaction.

INTRODUÇÃO

O melanoma tem origem nos melanócitos, predomínio em pessoas caucasianas de olhos claros, principalmente em indivíduos acima de 40 anos. Comparado a outros tumores de pele (basocelulares e de células escamosas), o melanoma é menos freqüente, representando 4% das neoplasias neste sítio (RIES et al., 2009). No entanto, sua letalidade é mais elevada devido à alta probabilidade de metástases (GRAY-SCHOPFER et al., 2007). Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), ocorrem anualmente mais de 130 mil novos casos de melanoma no mundo.

Amplas evidências apontam para a radiação ultravioleta (UV) como um dos principais fatores indutores do câncer de pele (BESARATINIA e PFEIFER, 2008). O risco depende do tipo de raio UV, da intensidade de exposição e da quantidade de melanina na pele (COTRAN et al., 2000). A radiação UV exerce diversos efeitos sobre as células, incluindo inibição da divisão celular, inativação de enzimas, indução de mutações somáticas e, em doses suficientes, morte celular (MARROT e MEUNIER, 2008).

Como o câncer é um distúrbio essencialmente celular, sua causa mais provável está associada à ocorrência de mutações somáticas em genes alvo. Quatro genes são descritos como causalmente as-

sociados à formação do melanoma: NRAS, BRAF, ATF1 CDKN2A (FUTREAL et al., 2004). Destes, o oncogene BRAF aparece mais comumente alterado, entre 50% e 70% dos casos, seguido do gene supressor tumoral CDKN2A (30-70%), do oncogene NRAS (15-30%) e do fator de transcrição ATF1 (alterado em raros casos de melanoma de partes moles) (GRAY-SCHOPFER et al., 2007; ALBERT et al., 2006).

Neste trabalho estudamos as propriedades sistêmicas destes quatro genes. Utilizando ferramentas de bioinformática, desenvolvemos um modelo rede de interação protéica com o objetivo de mapear as interações moleculares e quantificar a extensão funcional dos genes causalmente associados ao melanoma em relação aos demais genes do genoma humano.

MATERIAL E MÉTODOS

Para identificação dos genes de melanoma utilizamos o banco de dados do projeto genoma do câncer do Instituto Sanger (FUTREAL, 2009). Este banco de dados compila mutações causalmente associadas ao desenvolvimento de neoplasias malignas e disponibiliza essa informação na forma de um censo de genes de câncer. A nomenclatura genética foi curada usando ferramentas de bioinformática

disponíveis no Laboratório Europeu de Biologia Molecular (EMBL) (www.embl.org) e no banco de dados HGNC (<http://www.genenames.org/>), excluindo assim possíveis inconsistências.

Para a reconstituição da rede de interação protéica usamos o *software* Medusa (HOOPER e BORK, 2005), o qual constrói - através das interações funcionais entre os genes (ou produtos gênicos) - o grafo de rede apresentado na Figura 1. Para a análise estatística da rede de interação protéica desenvolvemos o *software* GNATT (*Gene Network Analysis Tools for Tracing Interactome ordering*) em linguagem de programação FORTRAN. Esta ferramenta de bioinformática possibilita o cálculo da conectividade k (que estima o número de vizinhos) e do coeficiente de clusterização C (que estima grau de agrupamento dos vizinhos). Além disso, este *software* permite uma abordagem inferencial buscando camadas de vizinhos funcionalmente associados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ponto de partida do trabalho foi a identificação dos principais genes causalmente associados ao melanoma, genes estes validados pelo Censo de Genes de Câncer (FUTREAL, 2009). Neste sentido, somente quatro genes entraram nos critérios de inclusão do censo: *NRAS*, *BRAF*, *ATF1* e *CDKN2A*. Utilizamos esses genes como “sementes” para buscar novos genes possivelmente associados ao desenvolvimento do melanoma. Nesta estratégia usamos meios inferenciais para varrer todo o genoma em busca de genes que in-

teragem funcionalmente com a semente. Isso foi conduzido utilizando informações depositadas no banco de dados STRING (<http://string.embl.de/>), o qual fornece um sistema de busca de interações protéicas descritas experimentalmente. A otimização desta estratégia foi feita com uso do *software* GNATT para reconstituir as camadas de interação. O resultado está apresentado na Figura 1. Como podemos observar na Figura 1, vários genes foram identificados a partir desta busca.

Em uma nova comparação com o censo de genes de câncer, observamos também que um grande número de componentes dessa rede apresenta relação causal com o desenvolvimento de outras neoplasias. Os resultados demonstram que 25% dos genes mapeados no modelo de rede de genes de melanoma estão envolvidos com a formação de pelo menos um tipo de câncer. Comparado a trabalhos prévios (CASTRO et al., 2007), isso corresponde a uma alta densidade de genes considerados alvos para mutações com potencial neoplásico.

CONCLUSÕES

O modelo de rede resultante pode servir de plataforma de estudo para a caracterização de transcriptomas de melanoma. As perspectivas deste trabalho envolvem o estudo mais aprofundado no âmbito funcional de cada gene, bem como as interações funcionais entre seus produtos. Além disso, estas ferramentas estatísticas serão disponibilizadas via internet, o que deve aprimorar o *software* GNATT e permitir a troca de informação entre potenciais usuários.

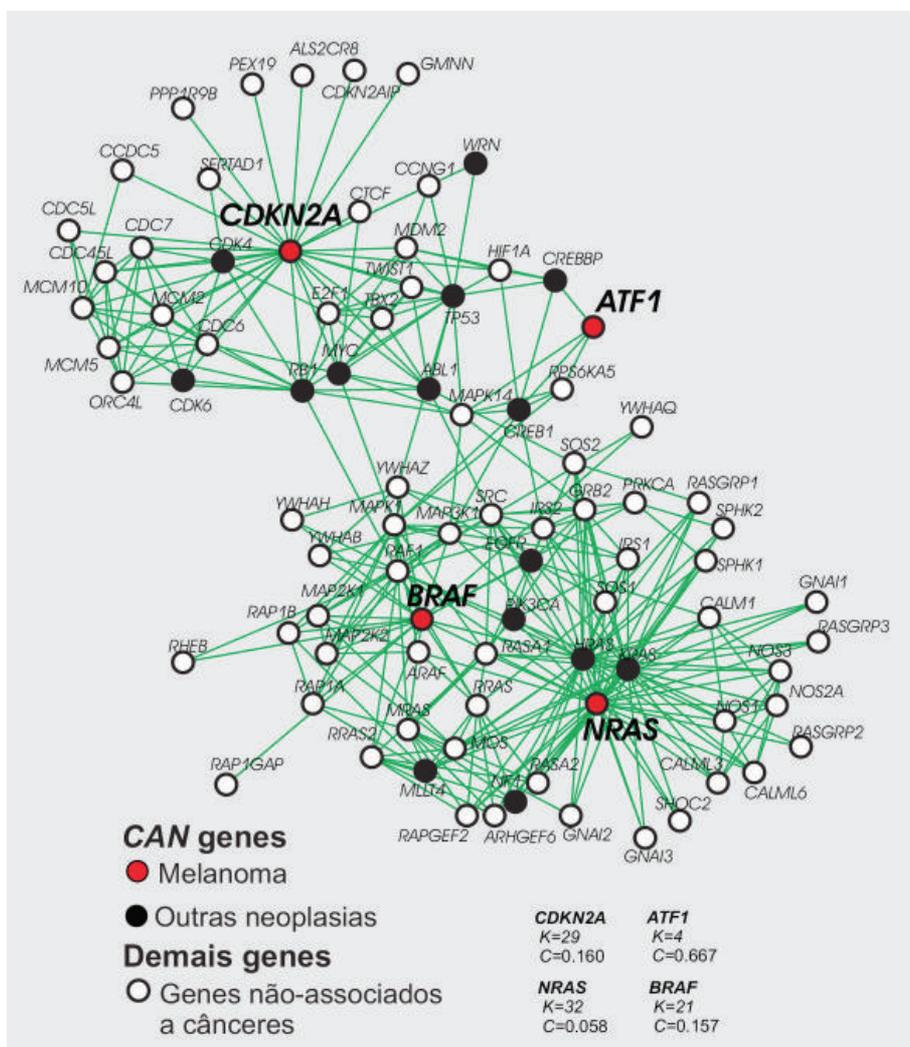


Figura 1 - Redes de interação protéica de genes causalmente associados ao desenvolvimento de melanoma. Os genes de câncer (CAN genes) correspondem aos genes causalmente associados ao desenvolvimento do melanoma segundo o Censo de Genes de Câncer do Instituto Sanger (FUTREAL, 2009). As interações proteína-proteína foram mapeadas com informações depositadas no banco de dados STRING (<http://string.embl.de/>) e os demais genes foram identificados com uso do *software* GNATT (ferramente de bioinformática desenvolvida no compilador Intel FORTRAN).

AGRADECIMENTOS

Auxílio: PROICT/ULBRA, CNPq e CAPES

REFERÊNCIAS

ALBERT, M. V. et al. Malignant melanoma of soft parts: a rare entity with a specific genetic marker. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 46, n. 5, p. 659, 2006.

BESARATINIA, A. ; PFEIFER, G. P. Sunlight ultraviolet irradiation and BRAF V600 mutagenesis in human melanoma. **Human Mutation**, v. 29, n. 8, p. 983-991, 2008.

CASTRO, M. A. A. et al. Impaired expression of NER gene network in sporadic solid tumors. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 6, p. 1859-1867, 2007.

COTRAN, R.; COLLINS, K. V.; ROBBINS, T. **Robbins: Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

FUTREAL, P. A. **The Cancer Gene Census**. Disponível em: <<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/>> Acesso em: 21 de fevereiro. 2009.

FUTREAL, P. A. et al. A census of human cancer genes. **Nature Reviews: Cancer**, v. 4, n. 3, p.177-183, 2004.

GRAY-SCHOPFER, V.; WELLBROCK, C.; MARAIS, R. Melanoma biology and new targeted therapy. **Nature**, v. 445, n. 7130, p. 851-857, 2007.

HOOVER, S. D.; BORK, P. Medusa: a simple tool for interaction graph analysis. **Bioinformatics**, v. 21, n. 24, p. 4432-4433, 2005.

MARROT, L.; MEUNIER, J.R. Skin DNA photodamage and its biological consequences. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.58, n.5 (suppl 2), p.S139-S148, 2008.

RIES, L.A.G. et al. **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005**, National Cancer Institute. Disponível em: <http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/> Acesso em: 4 fevereiro. 2009.