

# CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE METILAÇÃO GLOBAL EM CRIANÇAS PORTADORAS DE TUMOR DE WILMS

Bruna Maria de Sá Pereira<sup>1</sup>, Rafaela Montalvão de Azevedo<sup>1</sup>, Mariana Maschietto<sup>2</sup>, Paulo Faria<sup>1</sup>, Pedro Nicolau Neto<sup>1</sup>, Beatriz de Camargo<sup>1</sup>, Sheila Coelho Soares Lima<sup>1</sup>.

1. Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro - RJ - Brasil; 2. Laboratório Nacional de Biociências- LNBIO, Campinas - Sp - Brasil.

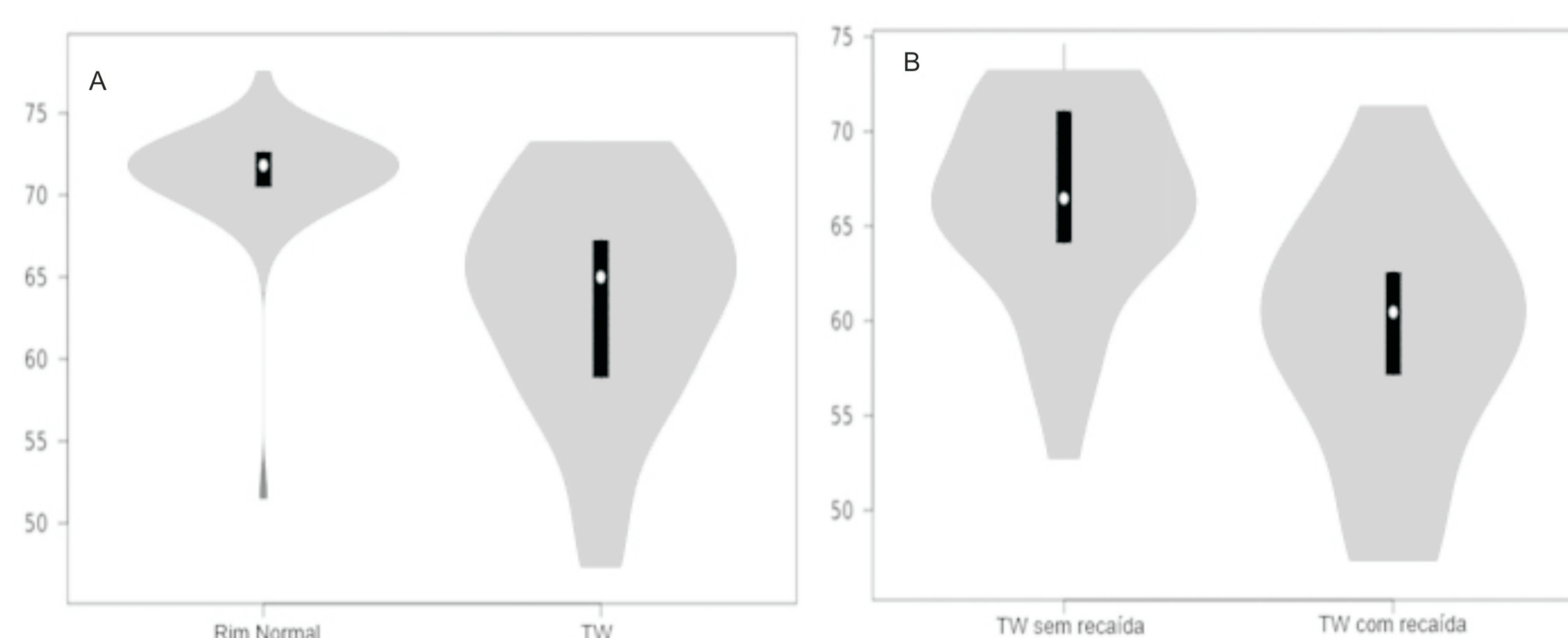
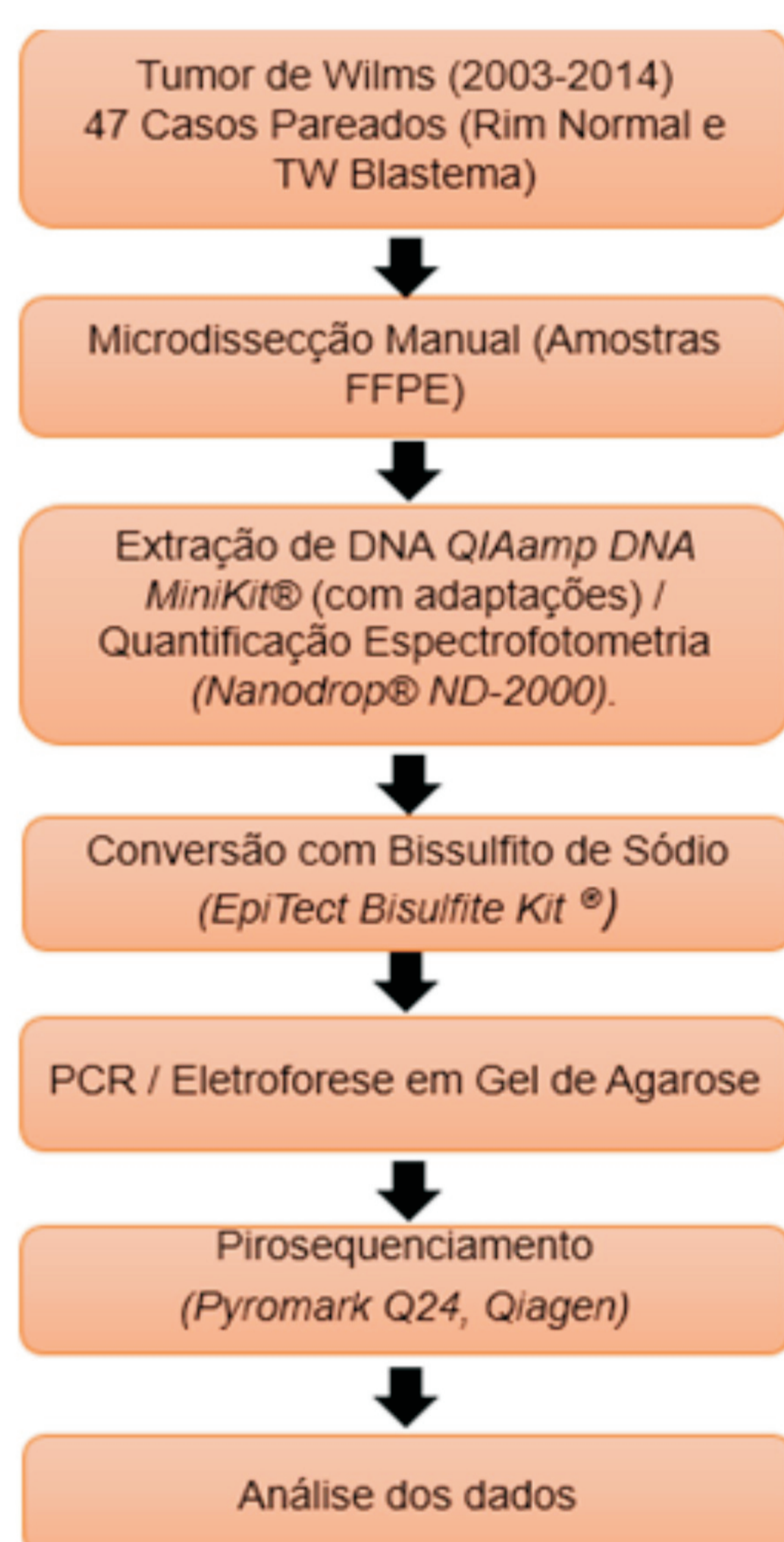
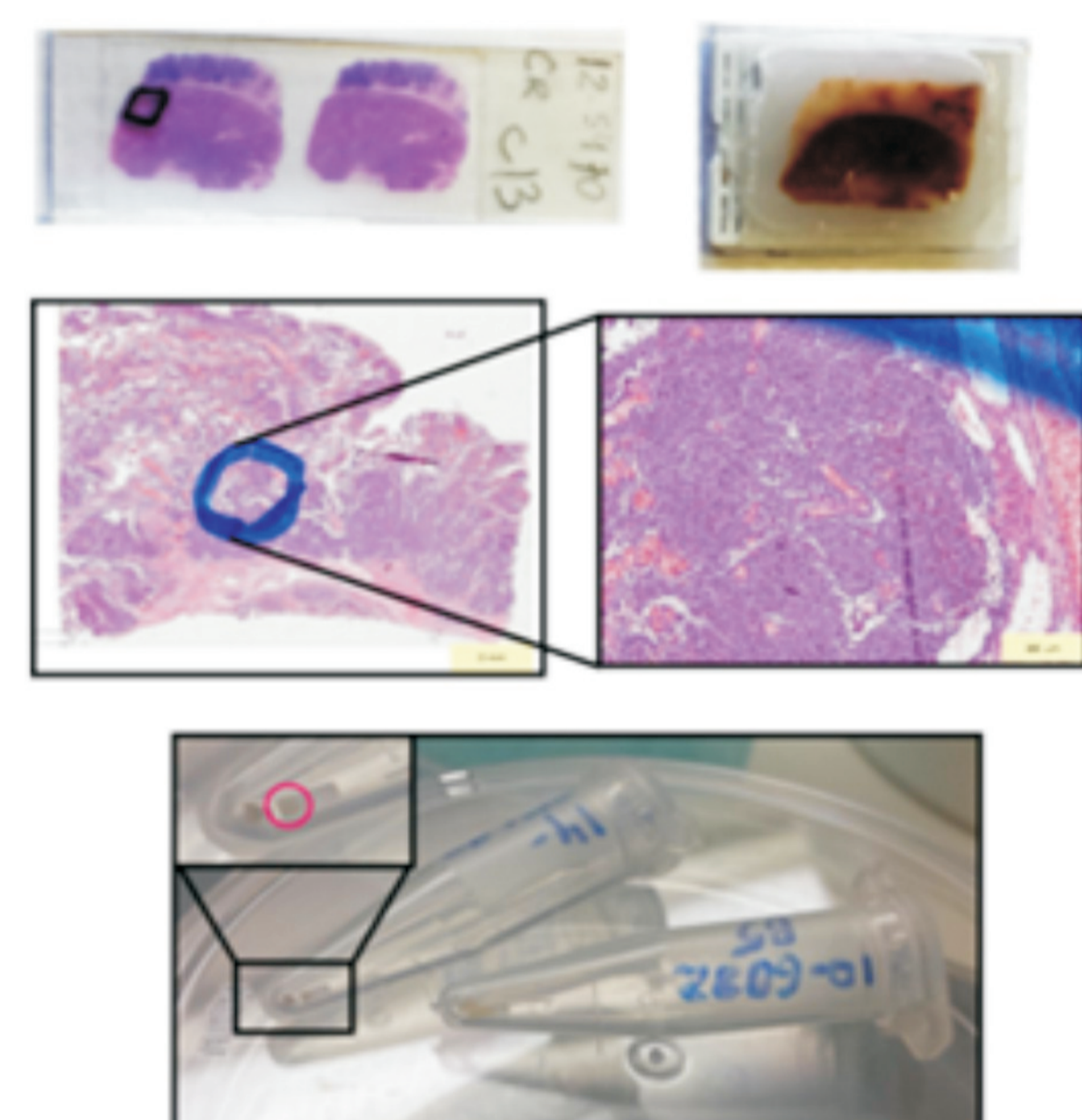
## INTRODUÇÃO

O Tumor de Wilms (TW) é um tumor embrionário composto por blastema, epitélio e estroma, presentes em proporções variáveis. A predominância de células blastematosas em TW pós-quimioterapia está associada com a resistência ao tratamento, e portanto pior prognóstico. Alterações epigenéticas, como a metilação do DNA, estão associadas à instabilidade genômica e tumorigênese.

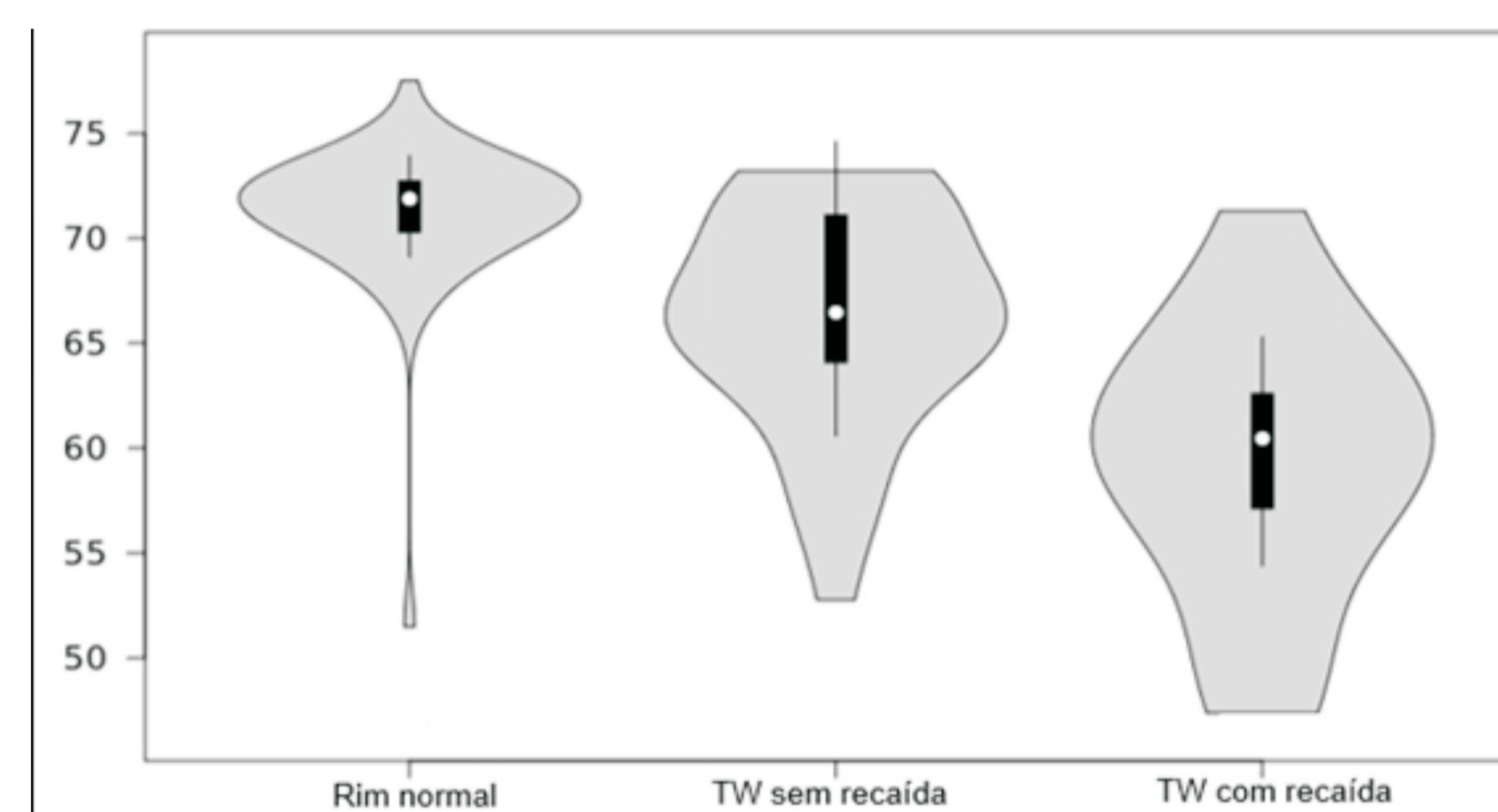
## OBJETIVO

Caracterizar o perfil de metilação de LINE-1 em amostras do componente blastematoso e de rim normal pareados.

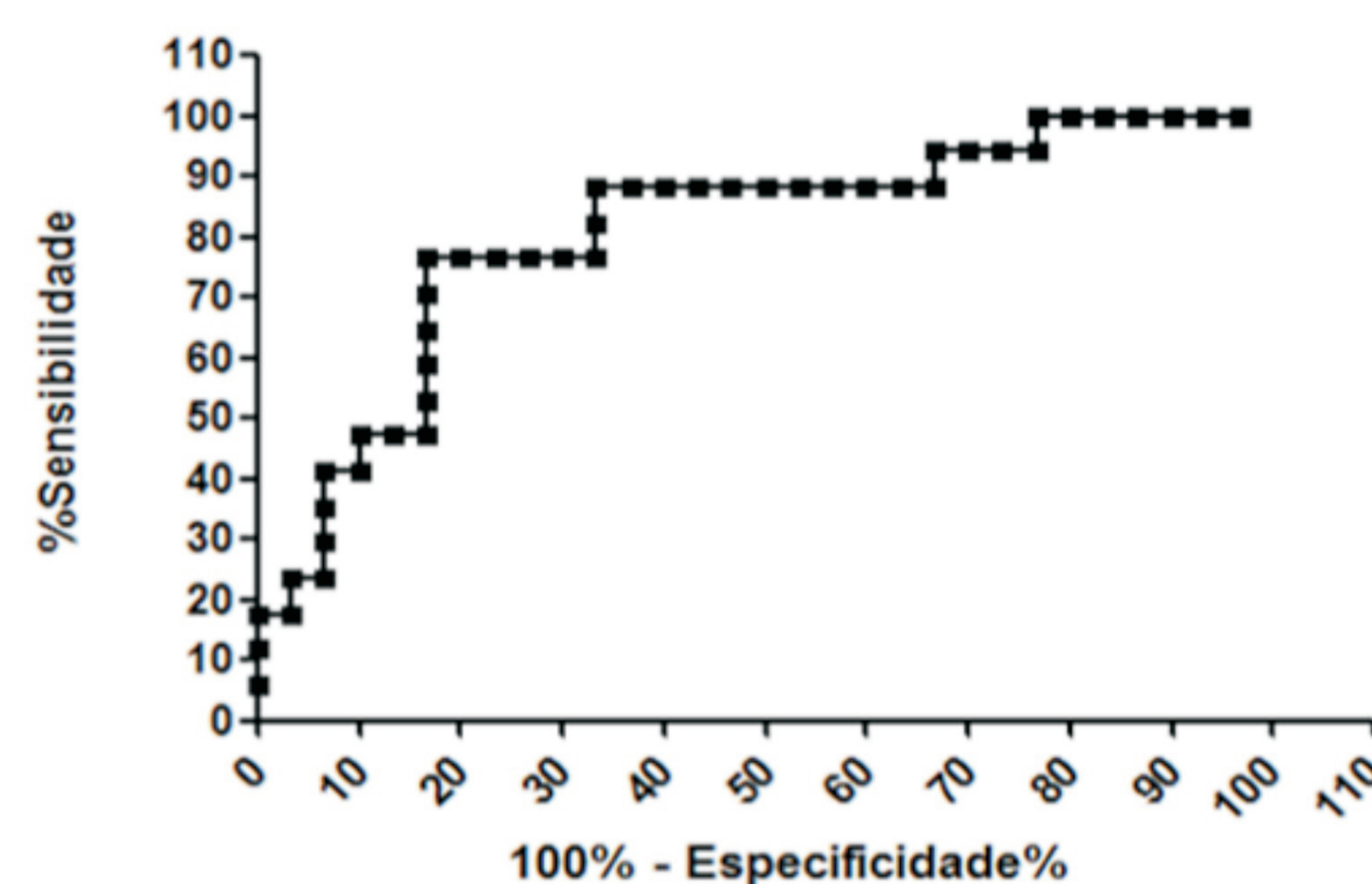
## METODOLOGIA



Figuras 2A e 2B: Violin plots representando a distribuição dos valores de metilação dos 5 sítios CpGs de LINE1 em relação à densidade das amostras. A curva é estimada por uma densidade Kernel e mostra os níveis de metilação onde há maior concentração de amostras. Boxplots internos incluem os níveis de metilação dentro dos interquartis 25% e 75%, com barras indicando 1,96 desvio padrão e o ponto branco sinaliza a mediana dos valores. Figura 2A mostra a comparação entre as amostras de Rim normal e Tumor ( $p < 0,0001$ , teste t de student), e 2B entre as amostras tumorais de pacientes que não apresentam recaída e amostras tumorais de pacientes que apresentam recaída ( $p < 0,0002$ , teste t de student).



Figuras 3: Violin plots representando a distribuição dos valores de metilação dos 5 sítios CpGs de LINE1 em relação à densidade das amostras. A curva é estimada por uma densidade Kernel e mostra os níveis de metilação onde há maior concentração de amostras. Boxplots internos incluem os níveis de metilação dentro dos interquartis 25% e 75%, com barras indicando 1,96 desvio padrão e o ponto branco sinaliza a mediana dos valores. Comparação entre as amostras de Rim normal, amostras tumorais de pacientes que não apresentam recaída e amostras tumorais de pacientes que apresentam recaída ( $p < 0,0001$ , teste de Kruskal - Wallis).



Figuras 4: Curva ROC Receiver Operating Characteristics para discriminação de amostras tumorais de pacientes diagnosticados com TW que apresentam recaída e amostras tumorais de pacientes diagnosticados com TW que não apresentam recaída, de acordo com o perfil de metilação de LINE 1 avaliados. Para um valor de corte de 62% de metilação, a área sob a curva (AUC) foi de 0,807, com uma sensibilidade de 76,5% e especificidade de 83,3%,  $p < 0,0005$ .

## RESULTADOS

As amostras de rim apresentaram média de 71,2% ( $DP \pm 0,5$ ) de metilação comparadas com 63,7% ( $DP \pm 0,9$ ) das amostras tumorais ( $p < 0,0001$ , teste t de student) (Figura 2A). Os baixos níveis de metilação no tumor são associados à ativação de LINE-1. Os níveis de metilação dos tumores foram avaliados quanto às variáveis clínicas (estadiamento, idade, sexo, metástase ao diagnóstico, óbito e recaída). Esta análise revelou que tumores que recaíram tiveram em média 59,2% ( $DP \pm 1,6$ ) comparado com 66,2% ( $DP \pm 0,9$ ) dos níveis de metilação em tumores que não recaíram ( $p < 0,0002$ , teste t de student) (Figura 2B). Ao comparar os níveis de metilação entre as amostras de rim normal, amostras tumorais sem recaída e que recaíram, pudemos observar uma correlação proporcional da queda nos níveis de metilação e a recaída (Figura 3). Utilizando um corte de 62% nos níveis de metilação, é possível prever o risco de recaída com 76,5% de sensibilidade e 83,3% de especificidade (Figura 4)

## CONCLUSÃO

Amostras tumorais apresentaram hipometilação global comparadas às amostras de rim normal, o que pode sugerir a ocorrência de instabilidade genômica. Adicionalmente, a perda de metilação é maior em amostras tumorais dos pacientes que apresentaram recaída, sugerindo que a diminuição da metilação global, e a instabilidade genômica, pode estar associada ao aumento do risco de recaída em pacientes com TW.