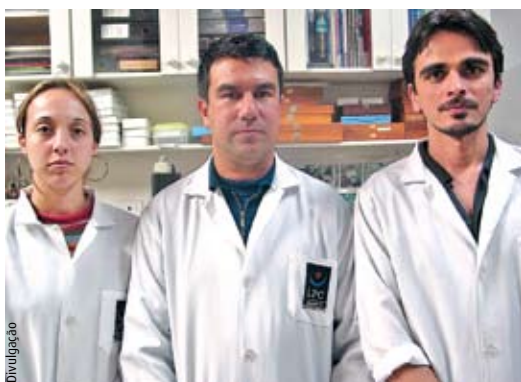


Microarrays em Câncer de Mama

Prof. Dr. Giovanni Dantas Cassali¹ • Dra. Angélica Cavalheiro Bertagnolli²
 Profa. Dra. Alessandra Estréla Silva^{2,3} • Prof. Dr. Enio Ferreira^{2,4}



Dra. Angélica Cavalheiro Bertagnolli, Prof. Dr. Giovanni Dantas Cassali e Prof. Dr. Enio Ferreira.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é uma das principais causas de morte em mulheres no ocidente. As estatísticas indicam um aumento de frequência da neoplasia tanto nos países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvi-

to.⁽⁹⁾ Uma das grandes limitações para reversão deste quadro consiste no fato do câncer de mama representar uma patologia extremamente complexa, apresentando-se na forma de vários subtipos histológicos que, mesmo compartilhando as mesmas características morfológicas, podem diferir nas características moleculares, na apresentação clínica e em sua evolução.⁽¹¹⁾

Os estudos da expressão gênica nos tumores, inicialmente, envolviam genes individuais a partir do cDNA, mRNA, proteína, tecidos ou qualquer material que pudesse ser quantificado.⁽⁹⁾ O emprego da tecnologia dos microarrays, entretanto, não possui a finalidade de reproduzir resultados em tumores individuais, e sim mostrar a diferença entre grandes grupos de tumores em condições experimentais padronizadas na avaliação de centenas de genes simultaneamente. Na prática

clínica, a utilização desta tecnologia molecular representa novas perspectivas de prognósticos e diagnósticos precoces, além de tratamentos e prevenções mais eficazes.^(4,14)

TÉCNICA E APLICAÇÃO DO CDNA MICROARRAY

A utilização de cDNA microarrays possibilita o estudo, em grande escala, da expressão gênica em células e tecidos de interesse. Um microarranjo de DNA consiste em fragmentos ou sondas de DNA complementares (cDNA) ou oligonucleotídeos conhecidos, fixos a uma lâmina de vidro ou outro tipo de suporte sólido (filtro de náilon) em um padrão ordenado.⁽¹⁰⁾ A preparação da amostra inicia-se pelo isolamento do RNA mensageiro (mRNA), conversão a cDNA e marcação deste com fluorocromos. Posteriormente, as amostras de cDNA são hibridizadas sobre os arranjos e a fluorescência emitida é detectada por um scanner automatizado.⁽¹¹⁾

Uma das principais aplicações da determinação do perfil de expressão de genes é a possibilidade de identificar diferentes subtipos de câncer.^(1,19) Além de auxiliar no diagnóstico podem ser feitas associações entre o perfil genético dos tumores e fatores como velocidade de crescimento, potencial de recorrência local, surgimento de metástases, resistência à quimioterapia e prognóstico pós-operatório.⁽¹⁷⁾ Van't Veer et al. identificaram diferentes subtipos de câncer e obtiveram um perfil gênico desses tumores, o que permitiu a predição

1 - Prof. Adjunto do Departamento de Patologia Geral. Coordenador do Laboratório de Patologia Comparada - ICB/UFMG.

2 - Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFMG. Doutorado.

3 - Profa. Assistente do Departamento de Patologia e Clínicas - EMEV/UFBA.

4 - Prof. Adjunto da Faculdade Itabirana de Saúde - FUNCESI.

do aparecimento de metástases e o prognóstico dessa doença em pacientes jovens.⁽²⁵⁾

A técnica de microarray também tem permitido um melhor esclarecimento sobre a biologia do câncer de mama, ao avaliar, principalmente, a relação entre a progressão neoplásica e a expressão de oncogenes (myb, TGF- β , c-erbB-2), genes supressores de tumor (p53, BRCA), e genes responsáveis pela expressão de receptores hormonais (receptores de estrogênio).^(11,5) A partir desse pressuposto, Dong e cols. caracterizaram a diminuição da expressão gênica do receptor TGF- β III na progressão do câncer de mama humano e sua associação com o aumento do potencial metastático do carcinoma ductal invasivo de mama.⁽⁶⁾

Já se observam na literatura trabalhos que buscam a partir do cDNA microarrays um aprofundamento sobre a fisiopatologia e a aplicabilidade prática de marcadores tumorais, com caráter prognóstico e preditivo, que possam ser utilizados na rotina clínica, a exemplo do que já acontece com os receptores hormonais e o Her2/neu. Entretanto, duas grandes limitações ainda se sobressaem à utilização rotineira do cDNA microarrays, a primeira delas refere-se à exigência de tecido fresco para a análise e a segunda o desconhecimento da totalidade dos genes que compõem o DNA humano e sua função.⁽²²⁾

TÉCNICA E APLICAÇÃO DO TISSUE MICROARRAY (TMA)

Diferente do cDNA microarray, o TMA avalia um único gene, porém em um grande número de amostras tumorais. A realização do TMA consiste na escolha dos casos em seções histológicas, seguidas da retirada de um pequeno cilindro contendo a área selecionada no bloco de parafina doador. O cilindro de tecido retirado é então introduzido em um novo bloco (bloco receptor). O resultado final do

processo é a obtenção do bloco receptor contendo de 100 até 1.000 amostras histológicas diferentes.⁽⁶⁾

A tecnologia dos microarrays possibilita a análise de vários casos em um único experimento, acelerando estudos moleculares que buscam associações entre variações moleculares e aspectos clínico-patológicos do câncer.⁽¹⁶⁾ Um dos pontos importantes a ser considerados no TMA é a obtenção de fragmentos de diferentes áreas tumorais para assegurar que haja representatividade da heterogeneidade desses tumores.⁽³⁾

Contudo, a técnica de tissue microarrays apresenta algumas limitações que precisam ser superadas:

- a. custo alto;
- b. significativa heterogeneidade entre as células tumorais e dentro do tecido, o qual pode conter diversos tipos de células;
- c. o emprego de um padrão técnico adequado que possibilite a obtenção de células puras;
- d. necessidade de repetição dos casos negativos para a presença de receptores hormonais.^(13,21)

Apesar da utilização do TMA estar amplamente validada pela literatura e seu uso ser cada dia mais difundido, existem poucos modelos de equipamentos disponíveis comercialmente e os preços variam entre 11 e 24 mil dólares. Buscando sanar tais dificuldades, Malagoli e cols. desenvolveram em 2006 um equipamento alternativo, mais econômico em relação aos equipamentos comerciais e que permite boa concordância diagnóstica com os cortes de blocos originais corados pela HE e no estudo I/Q de marcadores prognósticos em tumores mamários.⁽¹⁵⁾

Estudos que utilizam a técnica de tissue microarray no câncer de mama baseiam-se principalmente na identificação de imunomarcadores. A partir da utilização do TMA, Van den Eynden e cols. caracterizaram a expressão imunistoquímica de Her2/neu, p53 e dos receptores para estrogênio e

progesterona no carcinoma inflamatório da mama, onde foi possível identificar uma excelente concordância entre a técnica de TMA e as avaliações imunistoquímicas convencionais de seções histológicas.⁽²⁴⁾ Em estudos semelhantes, identificou-se um pior prognóstico em pacientes com carcinomas mamários que apresentem uma alta expressão de cicloxigenase-2 (COX-2) ou uma diminuição da proteína BRMS1, relacionada a supressão metastática do câncer de mama.^(7,26)

PERSPECTIVAS

Atualmente, os principais desafios a ser superados, para que a tecnologia dos microarrays faça parte da rotina diária dos laboratórios, estão centrados nos procedimentos realizados antes e após a execução da técnica em si, ou seja, na seleção das amostras, na padronização da obtenção e manipulação dessas amostras e na análise adequada dos dados obtidos. Entretanto, não há dúvidas de que a tecnologia dos microarrays possibilita a geração de muitos dados em curto espaço de tempo, fornecendo informações promissoras no que diz respeito a diagnóstico e tratamento do câncer. ♦

REFERÊNCIAS

1. Alizadeh AA, Eisen, MB, Davis E et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403:503-11.
2. Bubendorf L, Nocito A, Moch H et al. Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. *J Pathol*. 2001;195:72-79.
3. Camp R, Charette LA, Rimm D. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. *Lab Invest*. 2000;80:1943-49.
4. Cassali GD, Bertagnoli AC, Ferreira E. Tecnologia de microarray: Perspectivas no estudo do câncer de mama. *Prática Hospitalar*. 2006;8:145-148.
5. Dong M, How T, Kirkbride KC et al. The type III TGF- receptor suppresses breast cancer progression. *J Clin Invest*. 2007;117:206-217.
6. Ellis M, Davis N, Coop A et al. Development and validation of a method for using breast core needle biopsies for gene expression microarray analyses. *Clinical Cancer Research*. 2002;8:1155-66.

7. Hicks DG, Yoder BJ, Short S et al. Loss of breast cancer metastasis suppressor 1 protein expression predicts reduced disease-free survival in subsets of breast cancer patients. Clin. Câncer Res. 2006;12:6702-6708.
8. Hoos A, Cordon-Cardo C. Tissue microarray profiling of cancer specimens and cell lines: opportunities and limitations. Lab Invest. 2001;81:133-1338.
9. INCA. Estimativa 2006: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer. 2006;94.
10. Jayapal M, Melendez AJ. DNA microarray technology for target identification and validation. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 2006;33:496-503.
11. Jeffrey SS, Fero MJ, Borresen DA, Botstein D. Expression array technology in the diagnosis and treatment of breast cancer. Molecular Interventions. 2002;2:101-109.
12. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. Nat Med. 1998;4:844-847.
13. Lakhani SR, Ashworth A. Microarray and histopathological analysis of tumours: the future and the past? Nat Rev Câncer. 2001;1(2):151-7.
14. Lander ES, Linton LM, Birren B et al. International human genome sequencing consortium. initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409:860-921.
15. Malagoli RR, Andrade VP, Nunes CB et al. Construção de arrays de tecido com equipamento alternativo e de baixo custo para estudo imunistoquímico de tumores mamários. J Bras Patol Med Lab. 2006;42:477-482.
16. Moch H, Kononen J, Kallioniemi Olli-P, Sauter Guido. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? Review Articles and Mini Reviews Advances in Anatomic Pathology. January 2001;8:14-20.
17. Nagahata T, Onda M, Emil M. Expression profiling to predict postoperative prognosis for estrogen receptor-negative breast cancers by analysis of 25,344 genes on a cDNA microarray. Câncer Science. 2004;95(3):218-225.
18. Pakeisen E, Korsching E, Herbst H, Boecker W, Buerger H. Demystified... tissue microarray technology. Review. J Clin Pathol Mol Pathol. 2003;56:198-04.
19. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406:747-52.
20. Ramsay G. DNA chips: state-of-the-art. Nat Biotechnol. 1998;16:40-44.
21. Sapino A, Marchio C, Senetta R et al. Routine assesment of progostic factors in breast cancer using a multicore tissue microarray procedure. Virchows Arch. 2006;449:288-296.
22. Simpson, AJG, Leerke M, Caballero O et al. In silico comparasion of the transcriptome derived from purified normal breast cells and breast tumor cell lines reveals candidate upregulated genes in breast tumor cells. Genomics. 2002;79:257-265.
23. Tavassoli FA, Devilee P. World health organization classification of tumors of the breast and female. Genital Organs. 2003.
24. Van den Eynden GG, Van de Auwera I, Van Laere S et al. Validation of a tissue microarray to study differential protein expression in inflammatory and non-inflammatory breast cancer. Breast Câncer Research and Treatment. 2004;85:13-22.
25. Van't Veer LJ, Dai HY, Van de Vijver MJ et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature. 2002;415:530-536.
26. Zerkowski MP, Camp RL, Burtness BA et al. Quantitative analysis of breast cancer tissue microarrays shows high cox-2 expression is associated with poor outcome. Câncer Invest. 2007;25:19-26.

Endereço para correspondência:

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais - Instituto de Ciências Biológicas - Departamento de Patologia Geral
Laboratório de Patologia Comparada
Av. Antônio Carlos, 6627- CEP 31270-901
Belo Horizonte - MG.

Informativo

XV Congresso Brasileiro de Oncologia Clínica



Belo Horizonte sediará, pela segunda vez, um Congresso Brasileiro de Oncologia Clínica. A 15ª edição do evento será realizada entre os dias 31 de outubro e 3 de novembro, no Minascentro, um dos maiores centros de convenções de Minas Gerais.

O temário científico foi dividido em três atividades: 13 macrotemas (tipos de cânceres mais freqüentes), reuniões paralelas (formas de tratamento) e reuniões paralelas com temas importantes para o oncologista (legislação, SUS, judiciário, ensino em oncologia, entre outros).

Os participantes do Congresso poderão inscrever trabalhos científicos desenvolvidos na área. Os interessados podem ter acesso ao formulário de inscrição e também ao regulamento pelo site do congresso - www.sboc.org.br/congresso, assim como outras informações. É preciso ficar atento à data-limite para o envio dos resumos, que expira em 30 de junho de 2007. Os trabalhos serão avaliados pela Comissão de Temas Livres. Os aprovados vão ser classificados nas seguintes formas de exposição: apresentação oral, apresentação em pôster e publicação nos anais do congresso.

MACROTEMAS DO CONGRESSO

- Melanoma
- Câncer do Sistema Nervoso Central
- Câncer de Cabeça e Pescoço
- Tumores Gastrointestinais
- Câncer de Mama
- Câncer de Pulmão
- Tumores Ginecológicos
- Tumores Urológicos
- Linfomas
- Leucemias
- Mieloma Múltiplo
- Manual de Condutas em Oncologia
- Simpósio SBoc-ASCO

Mais informações podem ser obtidas também através do telefone (31) 3273-1121.