

## Resumos de Teses

### **Determinação do perfil de expressão dos RNAs mensageiros da família das Smads e dos componentes do complexo AP-1 em carcinoma de célula escamosa de cabeça e pescoço.**

Autora: *Flavia Regina Rotea Mangone.*

Orientadora: *Miriam Hatsue Honda Federico.*

Tese de Doutorado. FMUSP, 2005.

A via fator transformante do crescimento (TGF)  $\beta$ 1 em células epiteliais normais é uma importante via antiproliferativa que parece estar alterada em carcinoma de célula escamosa de cabeça e pescoço (HNSCC). A família das Smads, os principais sinalizadores dessa via, junto com as proteínas ativadoras-1 (AP-1) parecem ser alvos da ação de TGF $\beta$ . Neste trabalho, nossos objetivos foram estudar a expressão dos mRNAs das Smads e de membros da família AP1/jun-fos, avaliando possíveis correlações entre esses marcadores e parâmetros clínico-patológicos e de prognóstico dos pacientes com HNSCC.

Estudamos, prospectivamente, a expressão dos mRNAs das Smads 1-8 (n = 90), por ensaio de proteção da ribonuclease (RPA), e dos membros da família AP-1 (c-jun, junB, junD, c-fos, fos-B, fra-1 e fra-2, n=45), por Northern Blot, em fragmentos de tumor e mucosa normal adjacente de pacientes com HNSCC submetidos a cirurgia curativa. Todos os pacientes foram avisados dos procedimentos e concordaram por escrito em participar da pesquisa.

Nossos resultados apontaram para um aumento global da expressão dos mRNAs das Smads em HNSCC quando comparado a mucosa adjacente. Em um seguimento de 43 meses (0,23 a 43,27 meses de variação), as curvas de sobrevida de Kaplan Meier para o grupo Smad 6- (com expressão de Smad 6 abaixo da mediana do tumor) mostraram sobrevida mediana de 14,6 meses, enquanto o grupo Smad 6+ não alcançou a sobrevida mediana ("log rank" = 0,005, univariada). Essa vantagem de sobrevida foi confirmada como sendo independente do status nodal pela análise multivariada de Cox (p = 0,03). Com relação à

família AP-1, somente Fra-1 mostrou-se aumentado nos tumores (p = 0,006, teste t) e a positividade na expressão do mRNA de Fra-1 apresentou uma relação direta com a presença de linfonodos comprometidos (p = 0,006, teste de Fisher). Diante desses resultados, avaliamos o padrão de imunoreatividade de Fra-1 em 180 tumores e 29 mucosas normais adjacente de um banco de blocos em parafina, usando para isso, o "tissue array". Uma fraca imunoreatividade, restrita à camada basal, foi detectada em 79% das mucosas em contraste à intensa reatividade observada nos tumores. No subgrupo de tumores da cavidade oral, foi detectada uma mudança no padrão de reatividade variando com o a presença ou não de comprometimento linfonodal, ou seja, a marcação passou de nuclear/citoplasmática no grupo pN0 para exclusivamente citoplasmática no grupo pN+ (p = 0,0005, teste de Fisher).

Encontramos uma indução gênica e acúmulo de Fra-1 que podem contribuir para o fenótipo neoplásico em HNSCC. Além disso, a positividade de Smad 6 parece ser um marcador preditivo de bom prognóstico promissor em HNSCC, e que merece ser melhor estudado futuramente.

### **Caracterização molecular de fibroblastos originários de tecido mamário neoplásico ou não e modificação do perfil gênico após interação com células epiteliais mamárias normais.**

Autora: *Patrícia Bortman Rozenchan.*

Orientadora: *Maria Mitzi Brentani.*

Tese de Doutorado. FMUSP, 2005.

A homeostase da mama normal depende das interações entre células epiteliais e o estroma a elas associado. Estudos já mostraram que no carcinoma mamário o estroma é constituído por células com diferentes funções. Estes elementos do estroma incluem fibroblastos, os quais modulam o comportamento tumoral, fornecendo fatores de crescimento e componentes de matriz extracelular. Nosso objetivo foi investigar a expressão gênica diferencial entre

fibroblastos derivados de tecido mamário neoplásico ou não neoplásico e analisar a influência de células epiteliais normais (MCF10A) no perfil de expressão gênica de fibroblastos obtidos de tecido mamário neoplásico.

Culturas primárias de fibroblastos foram estabelecidas e a expressão de vimentina e actina de músculo liso foi positiva. Foi realizada a co-cultura destas células com separação por insertos, o que permite a passagem de fatores solúveis, e o RNA foi extraído. Após a amplificação do RNAm foram sintetizadas sondas de cDNA, as quais foram marcadas com fluorocromos conjugados a deoxinucleotídeo, hibridizadas competitivamente sobre lâminas de vidro contendo 4.608 ORESTES criadas no Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer/Fapesp e os sinais fluorescente gerados foram quantificados. Após a normalização destes dados, os genes diferencialmente expressos, com "false discovery ratio" (FDR) menor que 0,05, foram selecionados para análises posteriores.

Encontramos 283 genes diferencialmente expressos em fibroblastos derivados de tecido mamário neoplásico quando comparados àqueles derivados de tecido mamário não-neoplásico. Dentre estes genes, 187 foram quantitativamente regulados negativamente (com variação de expressão de 1,05 a 4,14) contra 96 regulados positivamente (variação de expressão de 1,17 a 7,73). A maioria destas alterações foram relacionadas ao transporte entre membranas, transdução de sinal e biossíntese.

Estes resultados podem sugerir uma redução na expressão gênica durante o processo de transformação. Após a co-cultura com células MCF10A, encontramos 566 genes diferencialmente expressos nos fibroblastos derivados de tecido mamário neoplásico, 323 foram regulados negativamente (expressão variando de 1,09 a 10,62) e 243 regulados positivamente (variação de expressão de 1,03 a 16,62). A influência das células MCF10A na expressão gênica destes fibroblastos pôde ser vista através da desregulação da expressão de genes relacionados com a proliferação celular, adesão, apoptose e sobrevivência.