

sadas pelo câncer de pulmão já ultrapassam as provocadas pelo tão temido câncer de seio. A comunidade científica acredita que 90% dos casos de câncer de pulmão sejam causados pelo tabagismo (ver gráficos).

Novas referências

As pesquisas de Vera Luiza, um ramo de estudo muito desenvolvido em países como Estados Unidos, Japão, Alemanha e Inglaterra, visam a fornecer novos elementos aos protocolos de tratamento do câncer de pulmão, ainda hoje muito dependentes de dois tipos de análise: o estadiamento do tumor (se o câncer está em estágio inicial ou desenvolvido, se está localizado em uma região ou disseminado pelo organismo) e sua classificação histológica (estudo biológico da estrutura microscópica dos tecidos).

De acordo com a classificação universalmente aceita e preconizada pela OMS, obtida a partir da microscopia de luz, há quatro grandes tipos de cânceres de pulmão: carcinoma de células escamosas (epidermóide), carcinoma de células pequenas (*oat-cell*), adenocarcinoma e carcinoma de grandes células (anaplásico). Como as diferenças entre tais tumores são, às vezes, muito tênues, dificultando assim um prognóstico da evolução da doença, essa classificação acaba sendo um parâmetro muito imperfeito. Outro problema desse tipo de classificação é que, às vezes, o material coletado para análise não é representativo de todo o tumor.

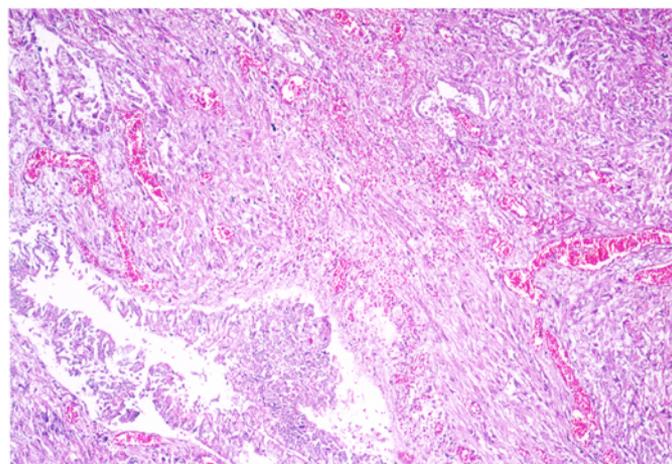
Diante de todas essas limitações na catalogação convencional de neoplasias pulmonares, Vera Luiza resolveu, então, estudar se outros fatores presentes nos tumores não poderiam servir de referência para o prognóstico da doença. Dessa inquietude intelectual da professora nasceu o projeto *Câncer de Pulmão: Aplicabilidade de Métodos Morfométricos, Histoquímicos, Moleculares e Imunohistoquímicos como Índices de Prognóstico*, no qual a FAPESP investiu R\$ 162,2 mil e que levou à criação do Labo-

ratório de Patologia Molecular da Faculdade de Medicina da USP, com equipamento próprio e permanente e material de consumo (anticorpos) cedido pela agência paulista de fomento à pesquisa.

Os estudos coordenados por Vera Luiza enfocaram basicamente um tipo de câncer do pulmão, o carcinoma de células escamosas, o mais comum deles. O tratamento ideal para esse tipo de câncer é a ressecção cirúrgica (retirada de um órgão em sua totalidade ou parcialmente a fim de extirpar o tumor). O problema é que em cerca de 30% dos pacientes operados o tumor acaba voltando a se manifestar até cinco anos após a cirurgia. Essa constatação levou à seguinte reflexão: se a ciência tivesse como prever com razoável grau de confiabilidade quais entre todos os pacientes operados tendem a apresentar uma recidiva da doença, os médicos poderiam lançar mão de terapias auxiliares (radio ou quimioterapia) nesses indivíduos com predisposição a desenvolver novo tumor, a fim de evitar que isso aconteça. Como se sabe, a radio e a quimioterapia são tratamentos agressivos contra o câncer, que não podem ser prescritos sem um rigor científico, sob pena de causar danos desnecessários aos pacientes.

Presença de marcadores

Para melhor estudar os vários marcadores biológicos, o projeto foi subdividido em cinco projetos menores, que foram tocados por Vera Luiza e mais seis médicos que defenderam teses de doutorados sobre o tema (Heloísa Andrade de Carvalho, Olavo Ribeiro Rodrigues, Fabiola Del Carlo Bernardes, Patrícia Cury, Carmela Caporino e Lea Maria Macruz Ferreira Demarchi). Juntando todos os estudos, foram feitas análises em 45 casos de carcinomas de células escamosas de pulmões operados, 43



Os marcadores, em vermelho mais escuro, no núcleo celular: confirmação da atividade tumoral

casos de carcinomas avançados de células escamosas e 75 casos de carcinomas de células não-pequenas e linfonodos mediastinais operados.

Um dos marcadores que se mostrou mais eficaz como sinalizador do comportamento de cânceres de pulmão foi a quantificação das regiões organizadoras (NORs, em inglês *Nucleolar Organizer Regions*) por meio de técnicas argirofílicas ou AgNOR, que significa proteínas nucleolares impregnadas pela prata. Trata-se de um método histoquímico simples e barato, que pode ser empregado em diagnósticos rotineiros realizados em laboratório. Os pesquisadores da USP contaram a expressão de AgNOR em núcleos neoplásicos e concluíram que, no tipo de câncer de pulmão mais comum (carcinomas de células escamosas), os tumores em estágio mais precoce apresentam uma baixa expressão desse marcador. Já os tumores com uma alta quantidade de AgNOR eram justamente os que estavam em um estado mais avançado. Conseqüentemente, a partir da análise da quantidade de AgNOR num tumor, os médicos tinham uma boa pista de quão longa seria a sobrevida de um paciente. Pacientes com baixos índices de AgNOR sobreviviam até cinco anos após a ressecção do tumor, algo muito raro de acontecer nos doentes que apresentavam alta concentração de AgNOR.

Outro marcador biológico interessante foi a chamada análise da ploidia do DNA (número de conjuntos de cromossomos) do tumor. Nos doentes com carcinomas de células escamosas, verificou-se que, depois de operados, os pacientes com tumores aneuplóides tinham uma sobrevida menor do que os indivíduos que apresentavam tumores diplóides ou tetraplóides. A equipe de Vera Luiza testou a eficiência de outros marcadores biológicos, como as técnicas imunohistoquímicas PCNA, P53 e Ki67, nesse mesmo tipo de câncer e outros tumores de pulmão. PCNA, P53 e Ki67 são moléculas presentes nas células tumorais conhecidas como oncoproteínas, que são expressas por anormalidades no ciclo celular biológico, indicando que as células não conseguem mais parar de se multiplicar, num processo que leva ao aparecimento do câncer.

As proteínas e as células

Como os pesquisadores medem a presença dos marcadores biológicos dos tumores? Tudo começa a partir da realização de uma biópsia (retirada de um fragmento de tecido para estudo) do tumor a ser analisado. Inicialmente, é feita uma análise mais rotineira do tecido canceroso, com o microscópio de luz, que permite basicamente estabelecer a qual dos quatro grandes tipos de câncer de pulmão o tumor pertence. Em seguida, começa o trabalho mais apurado.

Lançando mão da microscopia eletrônica e trabalhando com reagentes de laboratório que identificam a presença de certas substâncias no tecido estudado, os pesquisadores quantificam uma série de parâme-

tros das células daquele tecido, como seu volume nuclear (aplóide, diplóide ou tetraplóide) e a expressão de proteínas (P53, Ki67, etc.).

Obtidos esses dados, o passo seguinte é verificar se é possível estabelecer uma relação entre, por exemplo, a maior ou menor presença de uma proteína e a evolução do tumor. Em paralelo, é feito um acompanhamento (geralmente 60 meses) dos pacientes cujos tumores sofreram biópsia. Empregando modelos matemáticos, os pesquisadores montam, por fim, equações cruzando as informações dos marcadores analisados e da evolução da doença dos pacientes.