

MEDICINA

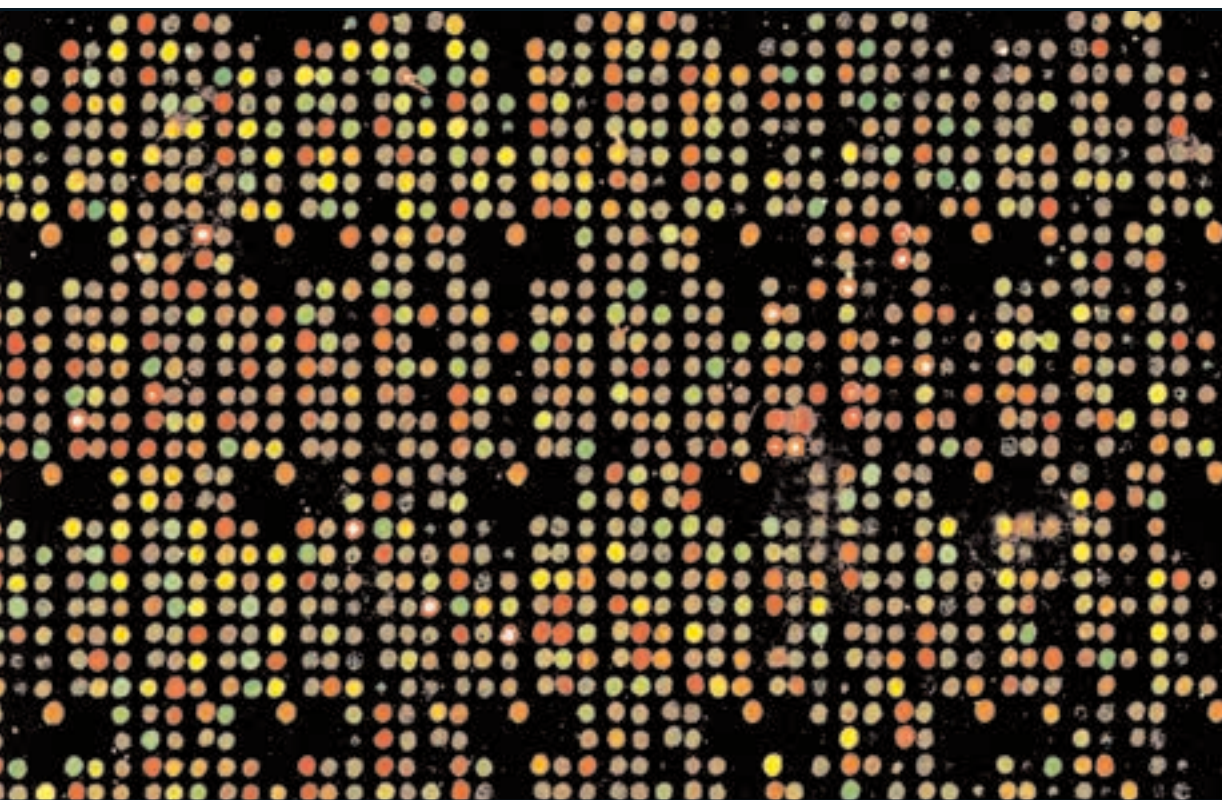
Os primeiros sinais de alerta

Ação de genes esclarece a origem e indica a evolução de tumores

RICARDO ZORZETTO

A primeira vista as lâminas de vidro cuidadosamente guardadas em uma sala do Instituto Ludwig para a Pesquisa do Câncer, em São Paulo, parecem iguais a quaisquer outras lâminas de microscópio, como as usadas por alunos de colégio à procura de micróbios em uma gota d'água. Mas, observadas com o auxílio de um laser ou uma luz ultravioleta, essas placas de vidro retangulares um pouco maiores que uma pedra de dominó revelam informações preciosas que estão aprimorando a compreensão e o tratamento do câncer. É que essas pequenas lâminas conhecidas como microarranjos de DNA, ou *DNA microarrays*, permitem identificar a um só tempo quais dos quase 30 mil genes humanos encontram-se ativos em determinado grupo de células ou tecido do corpo. Essa é uma propriedade essencial na investigação de doenças complexas como o câncer, porque permite comparar os genes em funcionamento nas células saudáveis com os acionados nas células cancerosas, revelando uma espécie de impressão digital do tumor.

Usando microarranjos de DNA desenvolvidos nos laboratórios do Instituto Ludwig e da



Pontos preciosos: chip de DNA revela os genes mais ativos (*em vermelho*) e os menos ativos (*em verde*) em células de câncer de mama

Universidade de São Paulo (USP), pesquisadores paulistas analisaram a atividade dos genes em quatro tipos de câncer – mama, próstata, estômago e esôfago – e fizeram descobertas capazes de alterar o tratamento de alguns tumores. Em uma das pesquisas, identificaram uma combinação de três genes que permite saber com antecedência se o medicamento doxorrubicina, o quimioterápico mais usado na rede pública de saúde contra o câncer de mama, surtirá ou não o efeito desejado. Com relação ao câncer de próstata, o segundo que mais mata homens no país, constataram que há uma relação entre o funcionamento de certos grupos de genes e a gravidade do tumor.

Essa mesma técnica permitiu ainda entender melhor como se origina o adenocarcinoma de esôfago, o tipo de câncer que mais cresceu no Ocidente nas últimas três décadas e hoje atinge cerca de 1% da população dos países desenvolvidos. Esse tumor parece surgir inicialmente no estômago e só depois invade o esôfago, e não o contrário, como se acreditava. A partir da comparação da atividade gênica de células do estô-

mago, também foi possível distinguir as que originarão um câncer daquelas que devem permanecer saudáveis ou daquelas que são características de quem sofre de gastrite. São resultados promissores porque podem auxiliar na detecção precoce desses tumores, geralmente descobertos em estágio avançado.

Benefícios às mulheres - Dessas quatro descobertas, a que ajuda a redirecionar o tratamento do câncer de mama é a de maior impacto sobre a saúde das pessoas. Principal causa de morte por câncer entre as mulheres, o tumor de mama deve atingir 467 mil brasileiras – e matar quase 50 mil – apenas neste ano, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer (Inca). Na tentativa de minimizar as marcas físicas e psicológicas provocadas pela doença, os médicos indicam um tratamento à base de medicamentos para reduzir o tamanho do tumor – e, conseqüentemente, o volume da mama a ser retirado. O problema é que nem sempre o tratamento pré-operatório mais adotado no Sistema Único de Saúde funciona. Em aproximadamente 20% das mulheres, a ad-

ministração endovenosa dos medicamentos doxorrubicina e ciclofosfamida não produz o efeito desejado de reduzir o tamanho do tumor, algo que só se descobre depois que as pacientes já passaram pelo tratamento, que em geral provoca queda de cabelo, além de intensas náuseas e mal-estar geral.

Diante dessa situação, Maria Mitzi Brentani e Maria Aparecida Koike Fogueira, professoras associadas da Oncologia da Faculdade de Medicina da USP, decidiram buscar um teste que revelasse para quais mulheres esses medicamentos funcionariam, antes que elas recebessem a medicação. Assim, ganha-se tempo, poupa-se dinheiro público e reduz-se o desconforto para as pessoas. “Se a doxorrubicina não funciona para uma mulher, o médico pode tentar outros medicamentos ou antecipar a realização da cirurgia”, explica Maria Mitzi.

Em colaboração com equipes do Instituto Brasileiro de Controle do Câncer, Hospital das Clínicas e do Hospital do Câncer, em São Paulo, e do Hospital Amaral Carvalho, em Jaú, interior do estado, Maria Mitzi e Maria

Aparecida coletaram amostras de tumor de mama de 51 mulheres com idade entre 31 e 67 anos, extraíram o material genético das células e analisaram a expressão gênica com microarranjos cedidos pelo Instituto Ludwig. Também conhecidos como *chips* de DNA, esses microarranjos – lâminas de vidro tratadas quimicamente sobre as quais um robô deposita um gene em cada ponto – foram elaborados com 4.608 genes identificados no Genoma Humano do Câncer, projeto financiado pela FAPESP e pelo Instituto Ludwig que sequenciou genes de 20 tipos de tumor.

De todos os genes avaliados, 228 se comportavam de maneira diferente – alguns estavam mais expressos que outros – nas mulheres em que o tratamento havia sido eficaz e reduzido o volume do tumor em pelo menos 30%. Em parceria com Dirce Carraro, do Laboratório de Análise de Expressão Gênica do Ludwig, Helena Brentani, do Laboratório de Bioinformática do Hospital do Câncer, e de Paulo José da Silva e Silva, do Instituto de Matemática e Estatística (IME) da USP, as pesquisadoras identificaram um trio de genes – PRSS11, CLPTM1 e MTSS1 – capaz de apontar em quem o tratamento seria eficaz.

Para saber se essa combinação de genes funcionaria na prática como um teste preditivo, utilizaram-na na avaliação de amostras de câncer de outras 14 mulheres. O trio de genes permitiu separar com 85% de acerto aquelas mulheres em que a doxorubicina e a ciclofosfamida funcionariam das que não se beneficiariam da terapia, de acordo com os resultados do estudo a ser publicado em breve na *Clinical Cancer Research*. Atualmente a equipe da Faculdade de Medicina da USP testa um número maior de amostras de tumor de mama na tentativa de comprovar a eficácia desse método. “Aproximar o resultado das pesquisas científicas da atividade clínica diária é o que busco há 20 anos”, afirma Ricardo Renzo Brentani, professor titular de Oncologia da Faculdade de Medicina da USP e diretor do Instituto Ludwig. Considerado uma das maiores autoridades nacionais no estudo de câncer, Brentani também é diretor presidente da FAPESP e coordenador do Centro Antônio Prudente para a Pesquisa e o Tratamento do Câncer, financiado pela FAPESP.



Não foi a primeira vez que os microarranjos desenvolvidos no Instituto Ludwig mostraram sua utilidade. Desde 2001, a equipe do bioquímico Luiz Fernando Lima Reis, também do Ludwig, adota essa ferramenta no estudo da origem e evolução de tumores de esôfago e estômago. Em um artigo que mereceu a capa da edição de agosto da *Cancer Research*, Lima Reis e Luciana Gomes apresentam a mais provável origem do adenocarcinoma de esôfago, um dos dois tipos de câncer típicos des-

se tubo muscular que conduz o alimento da boca ao estômago. Em geral esse tumor se desenvolve na região em que o esôfago se conecta ao estômago, a cárdia, e afeta os dois órgãos. Até a publicação desse artigo, acreditava-se que as células cancerosas surgissem no esôfago – em decorrência do refluxo das secreções ácidas do estômago, que causa irritação crônica das células – e em seguida se espalhasse em direção à entrada do estômago.

Os resultados colocaram essa idéia em xeque. Lima Reis descobriu que o padrão de expressão dos genes no adenocarcinoma de esôfago é muito semelhante ao do adenocarcinoma de estômago, a forma mais comum de câncer gástrico. “É um sinal de que, na realidade, esse câncer deve surgir no estômago e, nas fases mais avançadas, subir para o esôfago”, explica o pesquisador. Pode parecer óbvio, uma vez que a classificação do tumor é a mesma – adenocarcinoma, tumor maligno no tecido de revestimento de uma glândula ou cuja forma se assemelha à de uma glândula – e provoca alterações semelhantes na forma das células. Mas a indicação de

O PROJETO

Marcadores Marcadores Moleculares da Resposta à Quimioterapia Neoadjuvante do Câncer de Mama

MODALIDADE

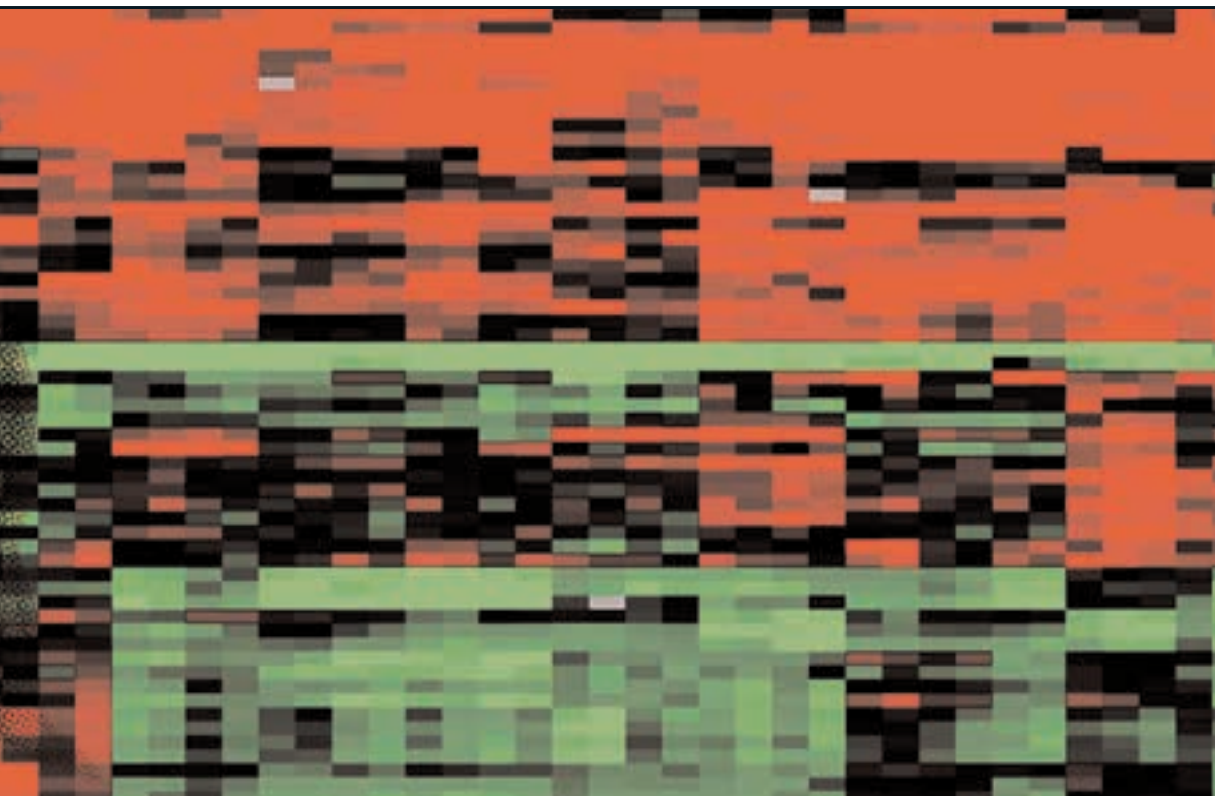
Linha Regular de Auxílio à Pesquisa

COORDENADORA

MARIA MITZI BRENTANI –
Faculdade de Medicina da USP

INVESTIMENTO

R\$ 515.088,21 (FAPESP)



Visão de conjunto: análise em computador compara a atividade de 66 genes em 14 amostras de tecidos com e sem tumor

que a origem pode estar em outro órgão faz toda a diferença quando o objetivo é detectar precocemente o tumor no esôfago, em geral identificado nos estágios mais avançados, quando a única saída é a extração completa do órgão. “Passamos muito tempo procurando o adenocarcinoma de esôfago em estágios iniciais no lugar errado”, diz Lima Reis. “Talvez se deva buscar os sinais precoces desse tumor também no estômago, próximo à cárdia.”

Em fevereiro do ano passado, outro estudo da equipe de Lima Reis já havia conquistado a capa dessa mesma revista, uma das mais importantes publicações sobre câncer. Os pesquisadores investigaram a expressão de 376 genes em 99 amostras da mucosa do estômago – havia tecido saudável, de gastrite, de um estágio pré-tumoral e de adenocarcinoma – e encontraram cem trios de genes que, com maior ou menor precisão, prediziam a que tipo de tecido a amostra pertencia. Se esses resultados forem confirmados em estudos de longa duração, nos quais

se acompanham as pessoas desde as primeiras alterações na mucosa gástrica até o surgimento do tumor, essas combinações de genes poderão ser usadas em testes para prever a evolução dos tumores gástricos que, supõe-se, surgem a partir de inflamações crônicas provocadas pela bactéria *Helicobacter pylori*.

S

ergio Verjovski-Almeida, do Instituto de Química da USP, optou por uma estratégia diferente. Aos microarranjos comuns – que contêm apenas genes ou trechos de genes, os chamados éxons, segmentos da molécula de DNA que armazenam informação para a produção de proteínas –, o pesquisador incorporou novos elementos: adicionou os chamados íntrons, trechos do DNA que não orientam a fabricação de proteínas, mas geram outra forma de

material genético, um tipo de RNA capaz de controlar a atividade de outros genes. Usando um *chip* de DNA composto por 2 mil íntrons e 2 mil éxons, Verjovski-Almeida e sua equipe avaliaram a expressão gênica de 27 amostras de câncer de próstata e constataram que os íntrons foram capazes de prever o grau de malignidade do tumor melhor que os éxons, de acordo com estudo publicado no ano passado na revista *Oncogene*.

Somados aos de outros países, esses resultados começam a aproximar os microarranjos do tratamento clínico das pessoas. Ainda que de modo tímido, empresas farmacêuticas iniciam a produção dos primeiros testes laboratoriais usando a tecnologia dos *chips* de DNA. Nos Estados Unidos, seis testes de microarranjos destinados a identificar cânceres de mama, ovário e leucemia – ou prever como esses tumores devem evoluir – ainda aguardam a aprovação da FDA, a agência reguladora de alimentos e medicamentos. Antes que cheguem ao mercado, porém, esses testes terão de mostrar que realmente são confiáveis. •