

Técnica detecta predisposição para tumor de base de língua

Objetivo de pesquisa da FCM é prevenção e diagnóstico precoce

CARMO GALLO NETTO
carmo@reitoria.unicamp.br

Os estudos genéticos envolvendo câncer se concentram em geral nas mutações adquiridas pelos indivíduos ao longo da vida em seus genes. No Laboratório de Genética do Câncer – ligado à Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp – estuda-se a predisposição genética herdada para o desenvolvimento de diversos tipos de tumores. Esses estudos possibilitam conhecer aspectos da fisiopatologia dos tumores diversos e estabelecer programas de prevenção e de detecção precoce dos mesmos para indivíduos saudáveis com comprovada maior predisposição herdada a eles. A professora de Oncologia Clínica Carmen Silvia Passos Lima, responsável pelo laboratório e orientadora do programa, considera que constitui papel dos serviços de oncologia não apenas tratar pacientes com tumores já estabelecidos, mas atuar na prevenção e diagnóstico precoce de tumores. Além da docência, que envolve cursos de graduação e pós-graduação, ela atua na assistência a pacientes nos ambulatórios e dedica-se ainda a pesquisas de fatores hereditários na prevalência de cânceres.

Centrado nessa linha de pesquisa, o biólogo Gustavo Jacob Lourenço – que se dedica à identificação de anormalidades cromossômicas e gênicas, hereditárias e adquiridas em tumores malignos – se propôs a estudar, orientado pela docente, a influência de alterações genéticas herdadas na predisposição para o desenvolvimento do carcinoma de células escamosas (CEC) de cabeça e pescoço, particularmente o de base de língua. A base de língua corresponde à sua parte inferior, próximo à orofaringe. A terminologia CEC de cabeça e pescoço engloba um conjunto de tumores identificados na cavidade oral, faringe, fossa nasal, seios paranasais e laringe. São tumores de alta incidência e mortalidade em várias regiões do mundo, incluindo o Brasil. Dos cerca de 650 mil novos casos identificados anualmente em todo o mundo, aproximadamente 65% deles apresentam-se em estágios avançados. O CEC da faringe constitui de 15% a 25% desses tumores e inclui os tumores de nasofaringe, orofaringe e hipofaringe. Os de orofaringe têm comportamento agressivo e, entre eles, os de base de língua são importantes, face à incidência, morbidade e mortalidade.

Apresentam maior probabilidade de desenvolver os tumores de base de língua indivíduos com mais de 50 anos, do sexo masculino, que cultivaram por longos anos os hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas, e possivelmente os que adotam dieta alimentar pobre em verduras e frutas e com excesso de alimentos gordurosos. O pesquisador concentrou-se no estudo desses tumores levado por seu índice de incidência, por apresentarem causas principais bem caracterizadas, por serem pouco estudados e porque eram desconhecidas anormalidades genéticas recorrentes nos portadores dos tumores.

Utilizando a técnica de genotipagem em larga escala ele conseguiu identificar variações (polimorfismos de base única) em genes de suscetibilidade ao CEC de base de língua. A técnica permitiu a varredura de mais de 500 mil polimorfismos gênicos de base única com rapidez e confiabilidade. O autor desenvolveu a técnica no Laboratório de Genética do Câncer da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp e no laboratório do Centro de Biologia Molecular Estrutural da Associação Brasileira de Tecnologia de Luz Síncrotron. A análise dos resultados foi realizada com a supervisão do professor Benilton Carvalho, do Grupo de Biologia Computacional, do Departamento de Oncologia, em estágio de dois meses, na Universidade de Cambridge, na Inglaterra.

Lourenço explica que “o polimorfismo gênico de base única é uma variação genética de apenas uma única base nitrogenada na sequência do DNA de um gene. Essa variação pode alterar a formação de proteínas – alterações de quantidade ou de função – que estão relacionadas, por exemplo, com o metabolismo de carcinógenos, ou com a regulação do ciclo celular, com o reparo de lesões no DNA e indução de células anormais à morte, fenômeno conhecido como apoptose”.

Em outras palavras: os polimorfismos de base única na cadeia de DNA de genes determinam trocas de bases nitrogenadas em posições determinadas da cadeia. As quatro bases do DNA, citosina (C), guanina (G), timina (T) e adenina (A) combinam-se em sequências específicas em gene da maioria dos indivíduos saudáveis, como por exemplo a sequência “TGC”. Na forma variante do gene polimórfico, presente em número menor de indivíduos saudáveis, ocorre a troca de uma base nitrogenada. Assim, a citosina pode ser trocada por guanina, determinando então a sequência “TGG”. Ser portador de uma ou outra sequência nesse gene é característica individual, que se transfere de pais para filhos.

POLIMORFISMOS

Sabe-se até o momento que os polimorfismos gênicos



O biólogo Gustavo Jacob Lourenço, autor da tese, e a professora Carmen Silvia Passos Lima, orientadora: genotipagem em larga escala

identificados no presente estudo estão associados ao maior risco de ocorrência dos tumores de base de língua ao longo da vida de indivíduos saudáveis que os herdaram de seus ancestrais. Esses polimorfismos foram identificados em genes envolvidos com a regulação do ciclo celular, com o reparo de lesões no DNA e indução de células à apoptose. O que ainda não é conhecido é porque esses polimorfismos gênicos alteram o risco para os tumores de base de língua, pois ainda não se sabe que papéis desempenham na síntese das respectivas proteínas de funções celulares básicas.

Os polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo de carcinógenos provavelmente explicam porque existem indivíduos mais sensíveis aos efeitos tóxicos do tabaco do que outros; alguns indivíduos herdam de seus ancestrais formas de polimorfismos gênicos que conferem maior capacidade de metabolizar o tabaco e excretá-lo e outros não. Com vistas a um estudo abrangente, Lourenço utilizou uma técnica recente denominada genotipagem em larga escala que permite determinar, em uma lâmina, na qual estão dispostos arranjos de DNA, formas de 500 mil polimorfismos de um indivíduo em uma única reação.

O trabalho envolveu a análise de 49 amostras de sangue de pacientes com carcinoma de base de língua e outro tanto do grupo controle constituído por indivíduos saudáveis, o que permitiu verificar se existem diferenças nas frequências de formas de cada um dos 500 mil polimorfismos gênicos e, assim, identificar aqueles responsáveis pelo aumento de risco no desenvolvimento dos tumores. O objetivo final é o de tentar identificar os indivíduos de maior risco herdado para os tumores e que possam ser submetidos a orientações adequadas para evitar o seu desenvolvimento e a exames periódicos para a sua detecção precoce. “Esse é a nossa meta depois de identificar, comprovar e validar esses resultados na população brasileira. Os indivíduos do grupo de risco devem ser encaminhados aos serviços de oncologia com o intuito de receber recomendações sobre a necessidade de não se esporem a fatores de risco, como o tabaco e o álcool. Eles devem ainda ser avaliados periodicamente através de exames específicos como a nasofibrolaringoscopia para visualização da cavidade oral, nasofaringe e orofaringe, de forma a identificar tumores precocemente, quando a probabilidade de cura é muito maior, pois normalmente esses pacientes chegam com o tumor em uma fase avançada e muito frequentemente em uma forma incurável. É bom lembrar que nós estamos avaliando uma característica herdada e não mutações que se desenvolvem ao longo da vida”, enfatiza a professora Carmen Silvia.

A professora esclarece ainda que o próximo passo é o de validar esses resultados com grupos maiores de indivíduos tanto de nossa região como de outras regiões do país. Para tanto, já foram estabelecidos contatos com outros centros de oncologia localizados no Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco, Sergipe, Paraíba, Goiás, Brasília, Amazonas, Roraima. Ela considera essa amplitude regional impor-

tante em um país como o nosso, de população etnicamente muito variável, o que permitirá chegar a resultados que se apliquem a toda a população brasileira.

Lourenço explica que esses centros teriam que coletar amostras de DNA (sangue) de pacientes e de um grupo de controle e mandá-las para o Laboratório de Genética do Câncer. Pesquisadores das respectivas regiões podem também vir ao laboratório para aprender a técnica. Na ampliação dessas pesquisas não haverá necessidade de usar lâminas com cerca de 500 mil arranjos de DNA, pois “já fizemos uma varredura que possibilitou determinar os polimorfismos mais importantes, o que permite, a partir daí, a utilização de uma técnica mais simples para identificar as formas desses polimorfismos em indivíduos das diversas regiões do Brasil e selecionar os com maior risco para o CEC de base de língua”.

O pesquisador explica que utilizou apenas 100 amostras de pacientes e de controles devido ao custo do chip que é utilizado uma única vez. Cada chip tem preço estimado hoje em torno de 500 dólares. O trabalho deu origem a um primeiro manuscrito que será submetido em breve à publicação. Outros manuscritos decorrerão do material já analisado. Ele entende ainda que a ampliação de amostras, oriundas de outras regiões do Brasil, permitirá validar os resultados obtidos até o momento e dará origem à publicação adicional. As pesquisas, que decorreram de uma sequência de projetos desenvolvidos em cinco anos, foram financiadas pela Fapesp, Finep e CNPq.

No pós-doutorado, Lourenço pretende identificar eventuais diferenças nas proteínas codificadas por formas distintas de cada polimorfismo gênico de interesse e verificar suas exatas funções no metabolismo celular. Sabe-se que as informações contidas nos genes em núcleos das células são transferidas para o citoplasma das mesmas por meio do RNA, que leva informações para a produção de proteínas no maquinário celular. As formas diversas de cada polimorfismo podem aumentar ou diminuir a quantidade de proteína produzida ou alterar sua estrutura, modificando sua função, como a capacidade de se ligar a certos receptores. A descrição desses polimorfismos que dão origem a proteínas diversas é nova, além do que os papéis delas no desenvolvimento dos tumores estudados ainda não são conhecidos.

Publicação

Tese: “Identificação de genes de susceptibilidade ao carcinoma de células escamosas de base de língua por genotipagem em larga escala”

Autor: Gustavo Jacob Lourenço

Orientadora: Carmen Silvia Passos Lima

Unidade: Faculdade de Ciências Médicas (FCM)

Financiamento: Fapesp, Finep e CNPq

Foto: Antoninho Perri