

Samuel Aguiar Junior

**Análise do perfil de expressão gênica de sarcomas
de partes moles de extremidades de adultos
submetidos a quimioterapia neoadjuvante com
doxorrubicina e ifosfamida**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Oncologia
Orientador: Prof. Dr. Ademar Lopes

SÃO PAULO

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Aguiar Junior, Samuel

Análise do perfil de expressão gênica de sarcomas de partes moles de extremidades de adultos submetidos a quimioterapia neoadjuvante com doxorrubicina e ifosfamida / Samuel Aguiar Junior. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Radiologia.

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Ademar Lopes.

Descritores: 1.Sarcoma/cirurgia 2.Expressão gênica 3.Análise de seqüência com séries de oligonucleotídeos 4.Quimioterapia 5.Quimioterapia adjuvante 6.Fator transformador de crescimento beta 1 7.Radioterapia

USP/FM/SBD-282/07

Para **Tiago e Isabela**, sempre.

AGRADECIMENTOS

A **D'us**, acima de todas as coisas.

Aos meus **pais e minha irmã**, por terem me acompanhado durante toda a vida, incondicionalmente.

A minha esposa, **Amanda**, pelo apoio e compreensão presentes tanto nos momentos de felicidade como nos de turbulência.

Ao Prof. **Ademar Lopes**, pela orientação contínua desde a residência médica até conclusão desta tese.

À Dra. **Isabela Werneck**, pela realização e revisão de todos os exames anatomopatológicos e separação de todas as amostras.

Aos membros do Laboratório de Biologia Molecular do Hospital A.C. Camargo, com atenção especial às Dras. **Waleska Kerllen Martins**, **Sara Marques** e **Mariana Maschietto**, cujo esforço e competência durante a fase de extração de RNA, amplificação e hibridização das amostras permitiu a realização desse estudo, e à Dra. **Dirce Maria Carraro**, pelas importantes orientações na fase de interpretação dos dados.

Aos Drs. **Alex Fiorini de Carvalho** e **Luiz Fernando Lima Reis**, por permitirem o uso da plataforma de “array”.

Ao grupo do laboratório de Bioinformática, em especial à Dra. **Helena Brentani** e ao **César Torres** pela realização das análises matemáticas e pela paciência em explicá-las.

Aos amigos do Departamento de Cirurgia Pélvica, **Benedito Mauro Rossi**,
Wilson Toshihiko Nakagawa, **Fábio de Oliveira Ferreira** e **Érika Monteiro**, não
só pela contribuição direta na condução da parte clínica do estudo, mas pelo
imprescindível suporte paralelo nas atividades assistenciais.

“Sete coisas distinguem o sábio do ignorante: o sábio não fala em presença de quem o ultrapasse em ciência ou em idade; nunca interrompe quem fala; não responde com precipitação; interroga com método e responde com precisão; discute as questões segundo a ordem em que foram colocadas; quando não compreende, confessa com franqueza; e curva-se diante da verdade. O ignorante faz precisamente o contrário.”

Tratado da Ética dos Pais. Capítulo 5. Mishná 9.

Sumário

Resumo

Summary

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1- Evolução do tratamento dos sarcomas de partes moles em adultos: revisão da literatura..... | 1 |
| 1.2- Radioquimioterapia neoadjuvante: experiência do Hospital A.C. Camargo, São Paulo, Brasil..... | 10 |
| 1.3- Fatores prognósticos e preditivos de resposta em sarcomas de partes moles de adultos..... | 17 |
| 2 OBJETIVOS..... | 23 |
| 3 MÉTODOS..... | 24 |
| 3.1- Tipo de estudo..... | 24 |
| 3.2- Seleção de pacientes..... | 24 |
| 3.2.1- Critérios de inclusão..... | 24 |
| 3.2.1- Critérios de exclusão..... | 25 |
| 3.3- Termos de Consentimento Livre e Esclarecido..... | 26 |
| 3.4- Diagnóstico, avaliação inicial e estadiamento..... | 26 |
| 3.4.1- Coleta de material e diagnóstico anatomopatológico..... | 26 |
| 3.4.2- Estadiamento..... | 27 |
| 3.5- Plano terapêutico..... | 27 |
| 3.5.1- Quimioterapia pré-operatória..... | 28 |
| 3.5.2- Cirurgia..... | 28 |

| | |
|---|----|
| 3.5.3- Radioterapia pós-operatória..... | 29 |
| 3.6- Monitoração da toxicidade e avaliações periódicas durante a quimioterapia..... | 30 |
| 3.7- Avaliação da resposta clínica..... | 31 |
| 3.8- Avaliação da resposta anatomopatológica..... | 32 |
| 3.9- Variáveis coletadas..... | 33 |
| 3.10- Validação histopatológica das amostras..... | 36 |
| 3.11- Extração do RNA total..... | 36 |
| 3.12- Amplificação do RNA mensageiro e preparação das sondas..... | 37 |
| 3.13- RNA referência..... | 38 |
| 3.14- Marcação indireta das sondas..... | 39 |
| 3.15- Hibridização e digitalização das imagens..... | 39 |
| 3.16- Análise estatística..... | 40 |
| 3.17- Financiamento..... | 42 |
| 4 RESULTADOS..... | 43 |
| 4.1- Dados demográficos e clínicos..... | 43 |
| 4.2- Dados do diagnóstico anatomopatológico e do estadiamento..... | 45 |
| 4.3- Dados do tratamento pré-operatório..... | 47 |
| 4.3.1- Adesão ao protocolo..... | 47 |
| 4.3.2- Toxicidade..... | 48 |
| 4.3.3- Resposta clínica à quimioterapia..... | 49 |
| 4.4- Dados referentes à cirurgia..... | 51 |
| 4.5- Dados anatomopatológicos das peças operatórias..... | 51 |
| 4.6- Dados do seguimento..... | 53 |
| 4.7- Análise da expressão gênica..... | 56 |

| | |
|--|-----|
| 4.7.1- Extração, amplificação, hibridização e normalização das amostras..... | 56 |
| 4.7.2- Análise dos dados..... | 58 |
| 5 DISCUSSÃO..... | 64 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 83 |
| 7 ANEXOS..... | 85 |
| 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 120 |

RESUMO

Aguiar Junior S. Análise do perfil de expressão gênica de sarcomas de partes moles de extremidades de adultos submetidos a quimioterapia neoadjuvante com doxorubicina e ifosfamida [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 134p.

INTRODUÇÃO: A cirurgia associada à radioterapia proporciona altas taxas de preservação de membros e de controle local em sarcomas de partes moles de extremidade de adultos, mas ainda apresenta elevadas taxas de complicações locais e de metástases à distância. O valor da quimioterapia adjuvante ou neoadjuvante ainda é controverso e objeto de investigações clínicas. A identificação de fatores moleculares preditivos de resposta à quimioterapia pode selecionar pacientes que se beneficiem ou não da sua aplicação. **OBJETIVOS:** identificar perfis de expressão gênica capazes de diferenciar tumores respondedores e não respondedores a quimioterapia neoadjuvante em sarcomas de partes moles. Analisar os resultados preliminares relativos à efetividade de um esquema de quimioterapia neoadjuvante em sarcomas de partes moles. **MÉTODOS:** amostras foram coletadas a partir de um ensaio clínico fase II não controlado que testa um esquema de quimioterapia neoadjuvante com doxorubicina e ifosfamida em sarcomas de alto grau histológico, localizados em extremidades de pacientes adultos. O perfil de expressão gênica foi determinado pela análise de cDNA “microarrays”. **RESULTADOS:** 14 pacientes foram incluídos no estudo clínico e 6 amostras foram utilizadas para análise molecular. 222 seqüências diferentemente expressas entre respondedores e não

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

