

RODRIGO BORSARI

**Expressão gênica do leiomioma uterino em mulheres
no período reprodutivo após tratamento com análogo
agonista do GnRH**

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

Área de Concentração: Obstetrícia e Ginecologia
Orientador: Dr. Nilo Bozzini

SÃO PAULO
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Borsari, Rodrigo

Expressão gênica do leiomioma uterino em mulheres no período reprodutivo após tratamento com análogo agonista do GnRH / Rodrigo Borsari. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Obstetrícia e Ginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia e Ginecologia.

Orientador: Nilo Bozzini.

Descritores: 1.Leiomioma 2.Expressão gênica 3.Hormônio liberador de gonadotropina 4.Análise em microsséries 5.Reação em cadeia da polimerase

USP/FM/SBD-304/08

DEDICO ESSE TRABALHO

Aos meus pais, pela educação, amor e dedicação, a quem devo todo sucesso que obtiver na vida.

À minha esposa Cristina, pela compreensão, colaboração, atitude crítica e, sobretudo, pelo amor que norteia meus passos, ao qual procuro ser merecedor.

À Isabella e Giuliana, minhas amadas filhas, a quem devo transmitir meus valores.

AGRADECIMENTOS

Às pacientes que contribuíram em toda minha formação acadêmica, desde a graduação, até a finalização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Edmund Chada Baracat, meu exemplo de liderança, pelas oportunidades oferecidas para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Dr. Nilo Bozzini, meu professor na concepção mais pura da palavra, a quem devo minha formação e oportunidades, como médico ginecologista, mas, sobretudo, os ensinamentos paternos de atitudes perante a vida.

À Profa. Dra. Angela Maggio da Fonseca, por compartilhar sua experiência, me encorajar e orientar desde o início dessa jornada, possibilitando assim a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Maurício Simões Abrão, pelas orientações e ensinamentos, sobretudo no período em que fui preceptor.

Ao Prof. Dr. Nilson Roberto de Melo, pelos ensinamentos durante toda a residência médica e sua valiosa contribuição para finalização desse trabalho.

À Profa. Dra. Consuelo Rodrigues Junqueira, pelo encorajamento, impulso inicial e abertura do LIM 02 para concretização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim Guerreiro da Silva, por compartilhar seu conhecimento na área de biologia molecular e abrir seu laboratório, nos auxiliando nas técnicas presentes nesse trabalho.

Ao Prof. Dr. José Maria Soares Júnior, pelo conhecimento e orientações dispensados desde o início desse trabalho.

À Sra. Gina Camilo, incansável profissional pela coleta, armazenamento e extração do material genético realizada com perfeição das amostras desse trabalho, além do ombro amigo e conselhos dados em momentos difíceis dessa trajetória.

Aos colegas, Alexandre e Lucimara pela contribuição e auxílio ao trabalho desempenhado pelo Sra. Gina no LIM 02.

Aos amigos do Grupo de Leiomioma Uterino do HCFMUSP, Sandro Garcia Hilário, Marcos de Lorenzo Messina e Edison Luis Campos Júnior, pela colaboração na realização das cirurgias, além do apoio moral.

Aos amigos Cezar Matsuzaki, Décio Teshima e Carlos Tadashi, pelo apoio moral, entusiasmo pela conclusão desse trabalho e retaguarda profissional.

À Sra. Célia Conceição Morais, Srta. Mara Núbia, Sra. Sônia Regina Rodrigues, Sr. Moacir Lopes e Sr. Leslie Santos, por serem sempre prestativos e atenciosos.

À Sra. Claudia Vieira, pelo conhecimento inigualável do processo de pós-graduação na FMUSP, que desde a matrícula, teve papel fundamental para o sucesso desse trabalho.

À todos os colaboradores do ambulatório (em nome da Enfermeira Maria José) e da enfermagem (em nome da Enfermeira Regimara) da Ginecologia no HC-FMUSP, os quais trabalham com dedicação e respeito as mulheres.

À todos os colaboradores do Hospital Estadual Sapopemba, local onde desempenho meu mais importante e orgulhoso trabalho.

À Sra. Ruth e Sr. Celso pelo amizade e colaboração na minha educação.

À Sra. Shirley, minha sogra querida, pela palavras de apoio e compreensão.

AO CNPq, pela bolsa oferecida.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Lista de Gráficos	
Resumo	
Summary	
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Etiopatogenia.....	3
1.2 Análogo Agonista do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH _a).....	5
1.3 Aspectos citogenéticos do leiomioma uterino.....	10
1.4 Biologia molecular do leiomioma uterino.....	12
1.5 Análogo agonista de GnRH e biologia molecular.....	19
1.6 Aspectos clínicos relevantes para a análise da expressão gênica do leiomioma uterino.....	21
2 OBJETIVOS.....	24
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	26
3.1 Pacientes.....	27
3.1.1 Critérios de inclusão.....	27
3.1.2 Critérios de exclusão.....	27
3.1.3 Fluxograma do estudo.....	28
3.2 Métodos.....	33
3.2.1 Técnica de “Microarray”.....	33
3.2.1.1 Extração de RNA.....	35
3.2.1.2 Síntese e marcação do RNA complementar.....	35
3.2.1.3 Fragmentação do cRNA marcado com biotina.....	36
3.2.1.4 Hibridização do cRNA fragmentado.....	36
3.2.1.5 Lavagem, coloração e leitura do array.....	37
3.2.2 PCR em tempo real.....	37
3.3 Método estatístico.....	40

4 RESULTADOS.....	41
4.1 Técnica de Microarray.....	42
4.1.1 Normalização.....	42
4.1.2 Genes diferentemente expressos.....	43
4.2 Confirmação por PCR em tempo real.....	49
5 DISCUSSÃO.....	56
6 CONCLUSÕES.....	65
7 ANEXOS.....	67
8 REFERÊNCIAS.....	81

LISTAS DE ABREVIATURAS

mg	miligrama
°C	Graus Celsius
µg	micrograma
µl	microlitros
del	delação
dl	Decilitro
IMC	Índice de massa corpórea
ins	inserção
inv	inversão
Kg	Kilograma
LIM	Laboratório de Investigação Médica
m	Metro
nm	newton metro
p	braço longo
q	braço curto
rpm	rotações por minuto
T	Translocação

LISTAS DE SIGLAS

ADH	<i>Alcohol dehydrogenase</i>
ALDH	<i>Aldehyde dehydrogenase</i>
ANXA	<i>Annexin A1</i>
APM	<i>Adipocyte-specific secretory protein</i>
ATF	<i>Activating transcription factor</i>
bFGF	Fator Básico de Crescimento de Fibroblastos
CCL	<i>Chemokine ligand</i>
CD24	<i>CD24 molecule</i>
CD44	<i>CD44 molecule</i>
CDKN1A	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A</i>
cDNA	Ácido desoxirribonucleico codificado
COL4A2	<i>Collagen, type IV, alpha 1</i>
CPA	Carboxipeptidase
CRABP	<i>Cellular retinoic acid binding protein</i>
CREG	<i>Cellular repressor of E1 A stimulated genes</i>
CRMP	<i>Collapsin response mediator protein</i>
cRNA	Ácido ribonucleico codificado
CTGF	<i>Connective tissue growth factor</i>
CYR	Indutor angiogênico rico em cisteína
DCX	<i>Doublecortin</i>
DEPC	Dietil-pirocarbonato
DLK	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 12</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPT	Dermatoponina
DUSP	<i>Dud specificity phosphatase</i>
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
EGR	Resposta a crescimento inicial
EMP	<i>Epithelial membrane protein</i>
ER	Receptores de estrogênio
EST	Seqüências expressas conhecidas
ETRA	<i>Endothelin receptor type A</i>
FISH	Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência
FOS	<i>v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog</i>

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:

