

Influência das células epiteliais mamárias malignas na expressão gênica de células estromais originárias de linfonodo axilar comprometido ou não-comprometido de pacientes com câncer de mama. Autora: *Ticiane Thomazine Benvenuti*. Orientadora: Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueiral. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2008.

O desenvolvimento da metástase depende, entre outros fatores, de um microambiente propício, e é possível que as células do câncer de mama influenciem o perfil da expressão gênica das células estromais, tanto no tumor primário como no linfonodo regional. Para estudar este último evento, obtivemos fibroblastos de linfonodos comprometidos ($n = 3$) ou não ($n = 3$) de pacientes com câncer de mama, os quais foram co-cultivados com células de câncer de mama MDA-MB-231, separados fisicamente por membranas porosas por 72 horas.

O perfil da expressão gênica foi determinado utilizando-se uma plataforma de cDNA microarray. A presença de células MDA-MB231 modulou a expressão de 415 genes em fibroblastos de linfonodos não-comprometidos e 779 genes em fibroblastos de linfonodos comprometidos, em relação a células mantidas em monocultura, sendo que 120 genes tiveram sua expressão regulada em ambas as comparações. A expressão destes

genes determinou a separação dos fibroblastos mantidos em co-cultura daqueles mantidos isoladamente em cultura por análise de agrupamento hierárquico, indicando que a presença das células de câncer de mama influencia o perfil da expressão gênica das células. Entre as funções reguladas pela presença de células MDA-MB231 encontram-se tradução e receptor de superfície ligado à transmissão de sinal, em fibroblastos de linfonodos não-comprometidos e autofosforilação de proteína e ciclo celular, em fibroblastos de linfonodos comprometidos.

Para determinar se a expressão gênica diferencial é um fenômeno que pode ser generalizado para o câncer de mama, realizamos ensaios utilizando outras amostras de fibroblastos obtidos de linfonodos comprometidos de cinco pacientes e de linfonodos não-comprometidos de outras cinco pacientes (incluindo as seis amostras de fibroblastos previamente analisadas), as quais foram co-cultivadas com três linhagens celulares de câncer de mama

(MDA-MB231, MDA-MB435 e MCF-7). A expressão relativa de MAP2K3, AKAP8L e CREG1, inicialmente identificados como diferencialmente expressos em análise de cDNA microarray, foi então determinada por RT-PCR em tempo real. Observamos que nenhuma das três linhagens celulares influenciou a expressão de AKAP8L e CREG1, tanto em fibroblastos de linfonodos comprometidos quanto não-comprometidos. MAP2K3 foi hiperexpresso tanto em fibroblastos de linfonodos comprometidos quanto em não-comprometidos co-cultivados com células MDA-MB231, mas não com células MDA-MB435 ou MCF-7.

Nossos resultados indicam que a presença de células MDA-MB231 influencia o perfil de expressão gênica de fibroblastos originários tanto de linfonodos comprometidos quanto de não-comprometidos. Alguns genes comumente regulados em fibroblastos de linfonodo comprometido ou não-comprometidos, incluindo MAP2K3, podem estar envolvidos no estabelecimento de metástase regional.