



# POLIMORFISMO SNP309 E A RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM TUMORES LOCALMENTE AVANÇADOS DE MAMA



Ana Laura Gatti Palma, Maria Salete Costa Gurgel

E-mail: [analgp@fcm.unicamp.br](mailto:analgp@fcm.unicamp.br), [salete@caism.unicamp.br](mailto:salete@caism.unicamp.br)

Programa Institucional de Iniciação Científica PIBIC/CNPq PRP

Departamento De Tocoginecologia - Caism, Laboratório De Biologia Molecular E Celular Hemocentro, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil.

**Palavras-chave:** SNP309 - Câncer de mama - Quimioterapia Neoadjuvante

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o câncer de mama é a neoplasia mais freqüente entre as mulheres, excluindo-se o câncer de pele não melanoma. A maioria dos casos é diagnosticada em estágios avançados (III e IV), constituindo-se na primeira causa de morte por câncer em mulheres.

Atualmente, a melhor forma de tratamento para os tumores no Estádio III inclui a quimioterapia (QT) neoadjuvante com o objetivo de atingir precocemente possíveis células micrometastáticas, além de obter melhor controle local da doença. Existe uma tentativa de correlacionar fatores clínicos e biológicos do tumor com a resposta à QT. Dentre eles está a avaliação do oncogene *MDM2*.

O polimorfismo SNP309 do *MDM2* está associado a diversos tipos de neoplasias malignas. Acredita-se que isso ocorra devido à inativação das vias de ação do P53, um gene supressor de tumor. O polimorfismo pode estar relacionado também à pior resposta terapêutica.

Este estudo transversal prospectivo tem como objetivo avaliar, em mulheres com câncer de mama localmente avançado e com indicação de QT neoadjuvante, as taxas de resposta clínica e patológica nas portadoras do SNP 309.

## METODOLOGIA

Foram colhidas amostras de sangue periférico de pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal invasivo de mama localmente avançado - excluindo os carcinomas inflamatórios - que seriam submetidas à QT neoadjuvante no Ambulatório de Patologia Mamária do CAISM, no período de agosto de 2008 a agosto de 2010, totalizando 101.

O material coletado foi transportado para o Laboratório do Hemocentro para extração do DNA e avaliação do gene *MDM2*. Para a extração do DNA foi utilizado o kit "ZR Genomic DNA II Kit™". As amostras foram submetidas a duas reações PCR, digestão enzimática e eletroforese em gel de agarose 3% para o estudo da região do íntron I do gene *MDM2*, que contém sua região promotora e é a região do polimorfismo SNP309.

**Tabela 1.** Seqüência dos Iniciadores e Enzimas de Restrição.

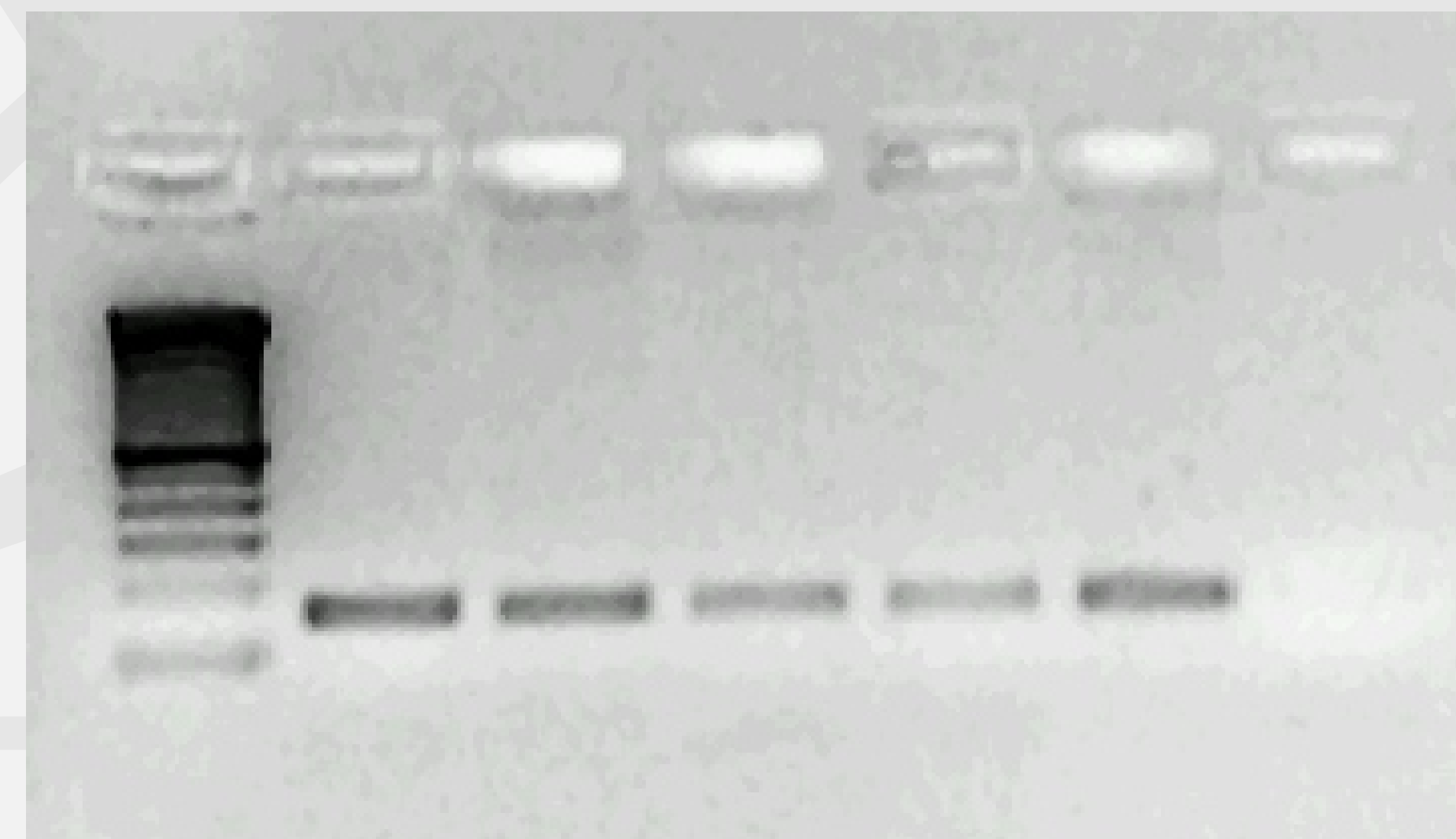
Gene	Seqüência dos Iniciadores	Enzimas de Restrição
MDM2	Sense: 5'-CGCGGGAGTTCAGGGTAAAG-3'	MspAII
	Antisense: 5'-CTGAGTCAACCTGCCCACTG-3'	
TP53	Sense: 5'-TCAGACACTGGCATGGTGTT-3' Antisense: 5'-AAGCCAAAGGGTGAAGAGGA-3'	BstUI

Os ciclos de QT foram realizados a cada 21 dias acompanhados do exame clínico das mamas para mensuração do tumor (resposta clínica) e após a cirurgia foi avaliada a resposta patológica.

Na análise estatística para avaliação de variáveis categóricas, como resposta tumoral de acordo com a presença de mutação do oncogene *MDM2*, será utilizado o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher, adotando-se o valor de 0,05 para o p.

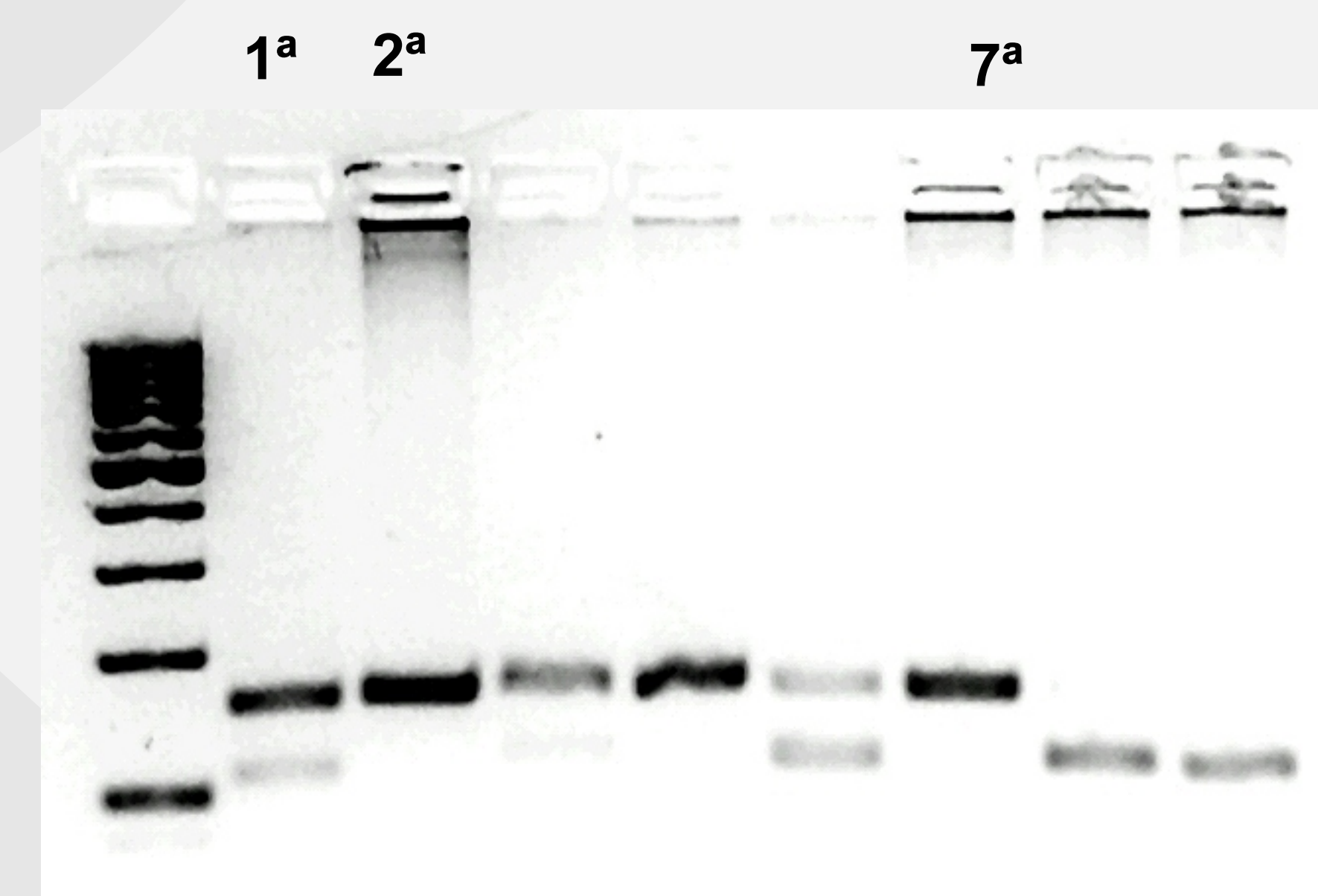
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram genotipadas com sucesso. Os resultados obtidos foram como os da imagem a seguir:



**Ilustração I - Produtos da reação PCR *MDM2* (157 pb)**

Os produtos assim obtidos foram então submetidos à digestão enzimática. Dentre os resultados obtidos, estão:



**Ilustração II Produtos da digestão enzimática *MDM2* (48 e 109 pb)**

Na primeira coluna a paciente é T/G, ou seja, heterozigota para a mutação. Na segunda coluna, T/T, homozigota normal, e na sétima, G/G, homozigota mutada.

No entanto, apenas 56 amostras foram genotipadas até o momento. Isto se deve a atrasos ocorridos por demora na determinação do protocolo para a nova enzima. Os primeiros lotes de enzima comprados eram mal funcionantes, e foram fator de confundimento importante para formalizarmos um protocolo de digestão satisfatório. Assim que concluirmos a genotipagem será realizada a análise estatística dos dados.

## CONCLUSÕES

O projeto ainda não está concluído. Novas alternativas foram propostas para sua execução, já que os objetivos iniciais não foram atingidos no prazo pré-estabelecido.

A revisão da literatura sobre o *MDM2* no câncer de mama nos permite afirmar que, dada a recorrência nos artigos disponíveis em bases de dados, o polimorfismo SNP309 do *MDM2* não altera o risco para o câncer de mama, tanto na forma familiar quanto esporádica. Já com relação ao momento de início da doença (precoce ou tardio), resposta à terapia e prognóstico não há consenso.

