

ciência

TÉCNICA LABORATORIAL PARA DIAGNOSTICAR CÂNCERES
HEMATOLÓGICOS COMEÇA A SER USADA EM TUMORES SÓLIDOS

Imagem gerada por IA

Tempo menor, eficiência maior

É comum que, com os avanços tecnológicos, os métodos para detecção de câncer sejam constantemente aprimorados, tornando-se cada vez mais precisos e modernos. Mas também acontece de um procedimento consagrado se expandir. É o caso da Citometria de Fluxo Multiparamétrica (CFM), metodologia laboratorial usada para diagnosticar cânceres hematopoiéticos (hematológicos), mas que, por meio de estudos desenvolvidos em universidades brasileiras, está sendo aprimorada em tumores sólidos.

Na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), um dos avanços alcançados é a redução do tempo para se chegar ao diagnóstico de tumores sólidos infantis: de até 20 dias para apenas 24 horas. Para a pesquisadora e coordenadora do Núcleo Transdisciplinar de Investigação em Saúde da Criança e do Adolescente, Elaine Sobral da Costa, outra conquista é a precisão. Segundo ela, nas amostras que não são câncer, a certeza é de 100%; nas positivas, a acurácia diagnóstica chega a 96% nos tipos

mais frequentes: neuroblastoma (surge em geral nas glândulas adrenais, localizadas na parte superior do rim, mas pode afetar outras regiões, como a paravertebral), rhabdomyosarcoma (atinge os músculos ligados aos ossos), tumor de Wilms (afeta os rins) e sarcoma de Ewing (pode se desenvolver nos ossos ou nos tecidos moles adjacentes).

Já o Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), vem confirmando o uso da CFM em tecidos sólidos, principalmente do câncer de mama. A técnica possibilita uma triagem inicial e acelera o processo de identificação pela anatomia patológica, o que reduz as suspeitas e o tempo do diagnóstico.



Para Elaine Sobral, uma das vantagens da Citometria de Fluxo Multiparamétrica é a precisão no diagnóstico

AGILIDADE

Elaine Sobral já tinha uma trajetória na hematologia pediátrica quando começou a trabalhar com tumores sólidos e percebeu que o tempo entre o processo de biópsia e o exame histopatológico não era compatível com as características do câncer em crianças e adolescentes – mais agressivo e de rápido crescimento. Era preciso agilidade, o que poderia ser conseguido

“Criamos um painel de anticorpos para detectar, além do linfoma, os cânceres de mama e de pulmão. Por citometria, conseguimos fazer uma triagem inicial, acelerando o processo de identificação pela anatomia patológica e reduzindo o tempo para o diagnóstico definitivo”

MARIA CLÁUDIA SANTOS DA SILVA, pesquisadora do Departamento de Análises Clínicas do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago

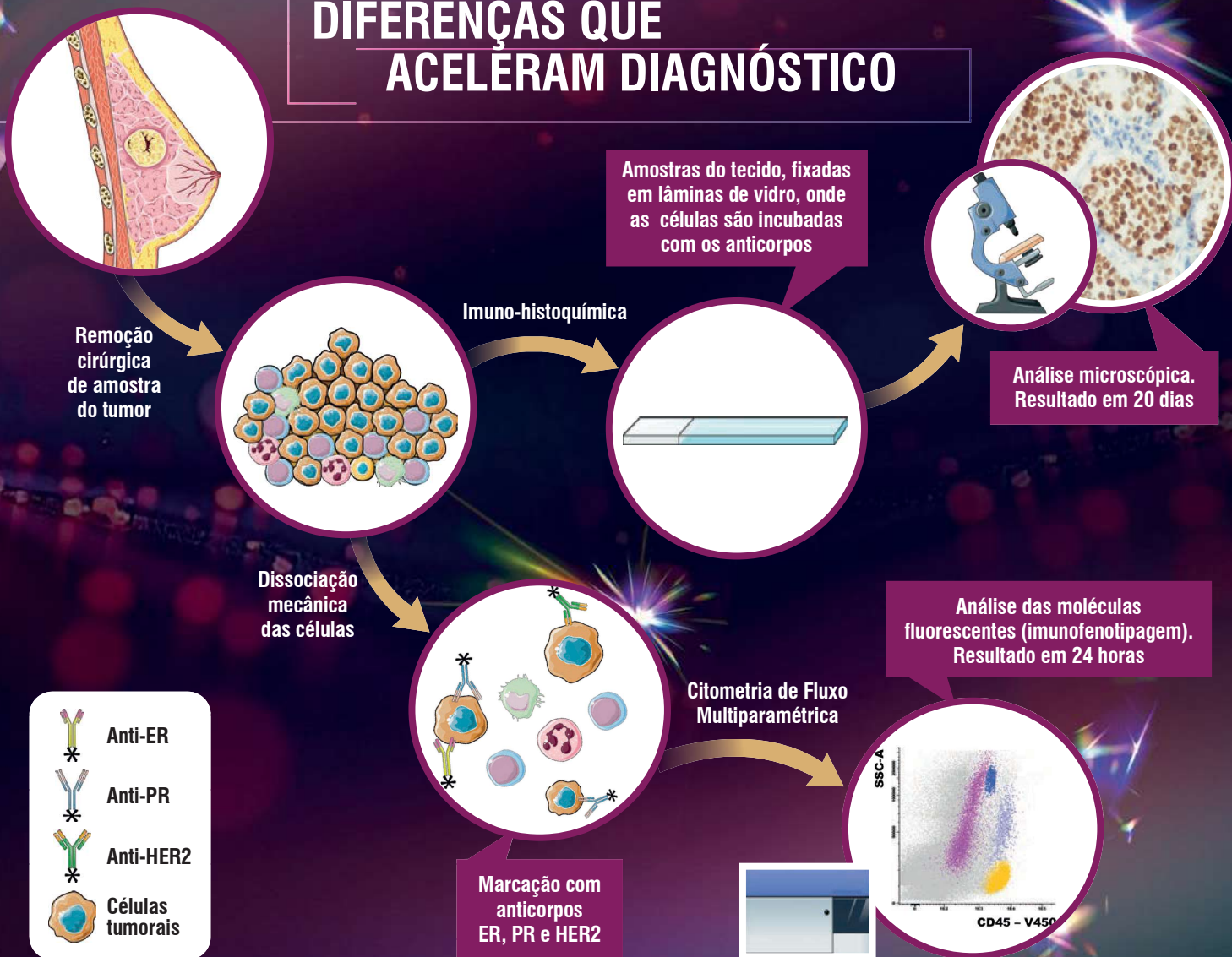
com a CFM. Porém, até então, a técnica era realizada somente com células em suspensão líquida.

Um estudo, iniciado em 2009, consistiu em dissociá-las para que pudessem ser lidas como se fossem uma leucemia, por exemplo. O trabalho, intitulado *Imunofenotipagem por citometria de fluxo para orientação diagnóstica e classificação de câncer pediátrico com base no tubo de orientação de tumores sólidos EuroFlow*, foi publicado em 2021 na revista *Cancers*. Foram utilizadas 476 amostras de 296 crianças e adolescentes, entre 10 dias de vida e 19 anos, dos hospitais Estadual da Criança, Federal da Lagoa e Federal dos Servidores do Estado, do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) e da Rede D'Or São Luiz, todos no Rio de Janeiro.

A aplicação da metodologia em uso clínico foi inserida no consórcio internacional EuroFlow, que reúne Bélgica, Polônia, Portugal, Espanha, Itália e Holanda, e já beneficiou mais de mil pacientes em todos esses países, incluindo o Brasil.

“A criança é operada, transportamos a célula tumoral até o laboratório, dissociamos, marcamos com os anticorpos e fazemos a CFM. Aquele conjunto de proteínas, que era analisado de forma sequenciada e

DIFERENÇAS QUE ACELERAM DIAGNÓSTICO



levava dias, passa a ser identificado no mesmo dia”, conta Elaine. A citometria é feita no IPPMG, hospital pediátrico universitário da UFRJ.

O resultado aparece como nos cânceres hematológicos. A CFM possui diversos detectores de luz de cores diferentes, possibilitando analisar várias características celulares ao mesmo tempo. Os anticorpos, ao se ligarem às proteínas das células, geram uma molécula fluorescente (imunofluorescência) que permite sua leitura.

Porém, há uma diferença importante: a resistência da amostra do tecido sólido fora do meio celular. As hematopoiéticas apresentam menos mortes, o que facilita a avaliação. De acordo com Elaine, o principal desafio foi garantir que a sequência de procedimentos

após a retirada do tecido ocorresse em algumas horas. Esse aspecto tem levado os pesquisadores a estudarem uma substância que possa preservar o material.

PARCERIA

O INCA é coparticipante do projeto desde 2022. A equipe de oncologia pediátrica ofereceu apoio na parte clínica, com o fornecimento das amostras e a troca de informações sobre os casos. “Além disso, a Divisão de Anatomia Patológica (Dipat) treinou profissionais citometristas e, mais recentemente, tem ajudado a escolher fragmentos com menos mortes celulares”, diz Elaine.

Chefe do Setor de Oncologia Pediátrica, Sima Ferman conta que o Instituto, como referência no tratamento de câncer em crianças e adolescentes, tem contribuído não só com seu grande número de pacientes, mas também com a validação da aplicação na rotina diagnóstica.

Ao serem registrados casos de tumor sólido, o setor do INCA entra em contato com a equipe da UFRJ. As pesquisadoras vão até o centro cirúrgico do Instituto, e um patologista da Dipat remove as amostras, que, no mesmo momento, são levadas para o IPPMG.

Em comparação com outros protocolos, a citometria tem se mostrado confiável. “Nós encontramos uma concordância surpreendentemente boa entre os resultados da CFM e as análises histopatológicas e imuno-histoquímicas feitas pela Dipat”, afirma Verônica Goulart Moreira, chefe da Divisão.

De acordo com a especialista, o laudo patológico é mais pormenorizado e minucioso, e a técnica otimiza esse processo. Por ser mais rápida, a CFM permite direcionar o olhar do patologista. Quando o profissional faz sua análise a partir da citometria, já parte de um provável diagnóstico.

UNIVERSIDADE PÚBLICA

Assim como no Rio, foi em uma universidade pública que a pesquisa sobre a CFM em câncer de mama se desenvolveu. No HU-UFSC, o Setor de Marcadores Celulares para o Diagnóstico de Neoplasias Hematológicas foi criado com o objetivo de fazer do hospital catarinense referência na formação de alunos de graduação e pós-graduação.

Após diversas pesquisas – e tendo estabelecido a citometria como rotina para diagnóstico e prognóstico dessas neoplasias –, a professora titular e pesquisadora do Departamento de Análises Clínicas Maria Cláudia Santos da Silva deu início, em 2013, aos estudos com tumores sólidos. A iniciativa resultou no trabalho *Evaluation of ER, PR and HER2 markers by flow cytometry for breast cancer diagnosis and prognosis* (Avaliação dos marcadores ER, PR e HER2 por citometria de fluxo para diagnóstico e prognóstico do câncer de mama, em tradução livre), publicado em 2021 na revista *Clinica Chimica Acta*.

Maria Cláudia conta que o setor começou a receber amostras de líquidos pleurais (fluidos encontrados nos pulmões e na cavidade torácica), suspeitos de linfoma. Na CFM, a identificação das células neoplásicas que caracterizam os tumores não hematológicos se dá por meio do marcador (proteína) CD45 negativo. “Na análise do imunofenótipo [padrão de

expressão de antígenos celulares], ele foi observado.”

“Os líquidos pleurais, quando malignos, são frequentemente encontrados em linfomas, no câncer de mama e no de pulmão. Sendo assim, é importante a identificação das células neoplásicas por meio de marcadores característicos para cada tipo da doença por citometria de fluxo. Criamos um painel de anticorpos para detectar, além do linfoma, os cânceres de mama e de pulmão. Por citometria, conseguimos fazer uma triagem inicial, acelerando o processo de identificação pela anatomia patológica e reduzindo o tempo para o diagnóstico definitivo”, esclarece Maria Cláudia.

A partir do achado, uma sequência de questionamentos foi provando que, além da visualização das células pleurais malignas secundárias ao câncer de mama, também era possível identificar as do tecido mamário. A desagregação da amostra foi padronizada e definiu-se o painel de marcadores/anticorpos para um total de oito receptores de identificação das células neoplásicas.

Os resultados mostraram que a metodologia é factível não só para identificar as células neoplásicas da mama, mas também para avaliar o marcador de proliferação celular Ki67, que estima o crescimento de tumores. Esses achados estão no estudo *Analysis of Ki-67 expression in women with breast cancer: comparative evaluation of two different methodologies by immunophenotyping* (Análise da expressão de Ki-67



Estudo conduzido por Maria Cláudia Santos mostra que a CFM permite identificar células neoplásicas da mama

em mulheres com câncer de mama: avaliação comparativa de duas metodologias diferentes por imunofenotipagem, em tradução livre), publicado em 2022 no jornal científico *Pathology Research and Practice*.

Na UFSC, os estudos sobre a CFM em tumores sólidos já resultaram em três teses, uma dissertação e seis artigos publicados em revistas científicas.

FUTURO PROMISSOR

Os pesquisadores do HU-UFSC avançaram na investigação das células CK19 (citoqueratina 19) circulantes, que, quando positivas no sangue periférico, podem estar migrando e invadindo outros tecidos.

“No Sistema Único de Saúde, metodologias como essa [Citometria de Fluxo Multiparamétrica] por podem direcionar para o início mais precoce e preciso do tratamento [de câncer] e para a redução do tempo de internação”

SIMA FERMAN, chefe do Setor de Oncologia Pediátrica do INCA

“Temos a expectativa de que elas permitam identificar metástase em mulheres com câncer de mama”, diz Maria Cláudia.

Nessa neoplasia, a primeira opção diagnóstica é a biópsia core, procedimento minimamente invasivo usado para coletar amostras. O próximo passo é analisar a viabilidade de usar esse material, mas a técnica esbarra no tamanho (pequeno demais) e na dificuldade de dissociar o tecido. A desagregação também foi uma barreira para os estudos sobre câncer de boca.

Em paralelo, está sendo estudado o papel das vesículas extracelulares, estruturas semelhantes à membrana da célula. Elas participam, por exemplo,



da comunicação celular, da coagulação sanguínea, da imunidade e da regeneração tecidual. “Estamos investigando a importância delas como biomarcadores para avaliação prognóstica e presença de metástase em carcinoma de mama”, completa a pesquisadora.

O avanço, porém, pode estar associado também à superação de um desafio, segundo Elaine Sobral: o incremento de métodos diagnósticos, menos invasivos, guiados por imagem e que disponibilizam menor quantidade de células. “Em parceria com o pesquisador do INCA Martín Bonamino, estamos desenvolvendo um método para amostras com poucas células”, conta a pesquisadora da UFRJ.

Enquanto isso, ela e sua equipe seguem fazendo o acompanhamento dos pacientes. “Como é uma técnica que estuda milhões de células muito rápido, permite ver infiltrações [de células cancerígenas em tecidos adjacentes] muito pequenas”, completa. Além disso, por se tratar do equipamento utilizado para cânceres hematológicos, Elaine acredita que, com o treinamento de citometristas, a técnica possa se tornar realidade em mais instituições pelo Brasil.

“No Sistema Único de Saúde, metodologias como essa podem direcionar para o início mais precoce e preciso do tratamento e para a redução do tempo de internação. No futuro, agregaremos informações úteis para melhorar o prognóstico”, ressalta Sima Ferman. ■