

# Estudo Citogenético e Proteômico de Células Mesenquimais Estromais de Pacientes com Síndrome Mielodisplásica: Investigando as Alterações do Microambiente Medular

Teresa de Souza Fernandez, Renata Binato, Luciana Pizzatti, Gabriela Lemos, Patrícia Redondo, Luis Fernando Bouzas, Eliana Abdelhay

1- Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA). 2- Laboratório de Biologia Molecular e Proteômica do Sangue/Depto. de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, RJ, Brasil. (e-mail: teresafernandez@inca.gov.br)

## INTRODUÇÃO

O microambiente da medula óssea tem sido indicado como um importante componente envolvido na patogênese da SMD. O principal componente do microambiente medular corresponde as células mesenquimais estromais (CMEs). No entanto, não é claro o padrão citogenético das CMEs em SMD. Em relação à caracterização das proteínas e das vias de sinalização em CMEs através da análise proteômica, até o momento não existem estudos utilizando essa estratégia.

## OBJETIVO

Analisar citogeneticamente CMEs de pacientes com SMD e caracterizar através da análise proteômica as proteínas, processos e vias de sinalização em CMEs envolvidos na patogênese da SMD.

## MATERIAS E MÉTODOS

Amostras de medula óssea foram obtidas de 25 pacientes com SMD e 20 doadores saudáveis provenientes do INCA. As CMEs foram cultivadas em DMEN-baixa glicose, suplementado com SFB, glutamina e antibióticos. Essas células foram coletadas para análise citogenética (bandeamento GTG) e proteômica após a 3ª passagem (Figura 1).

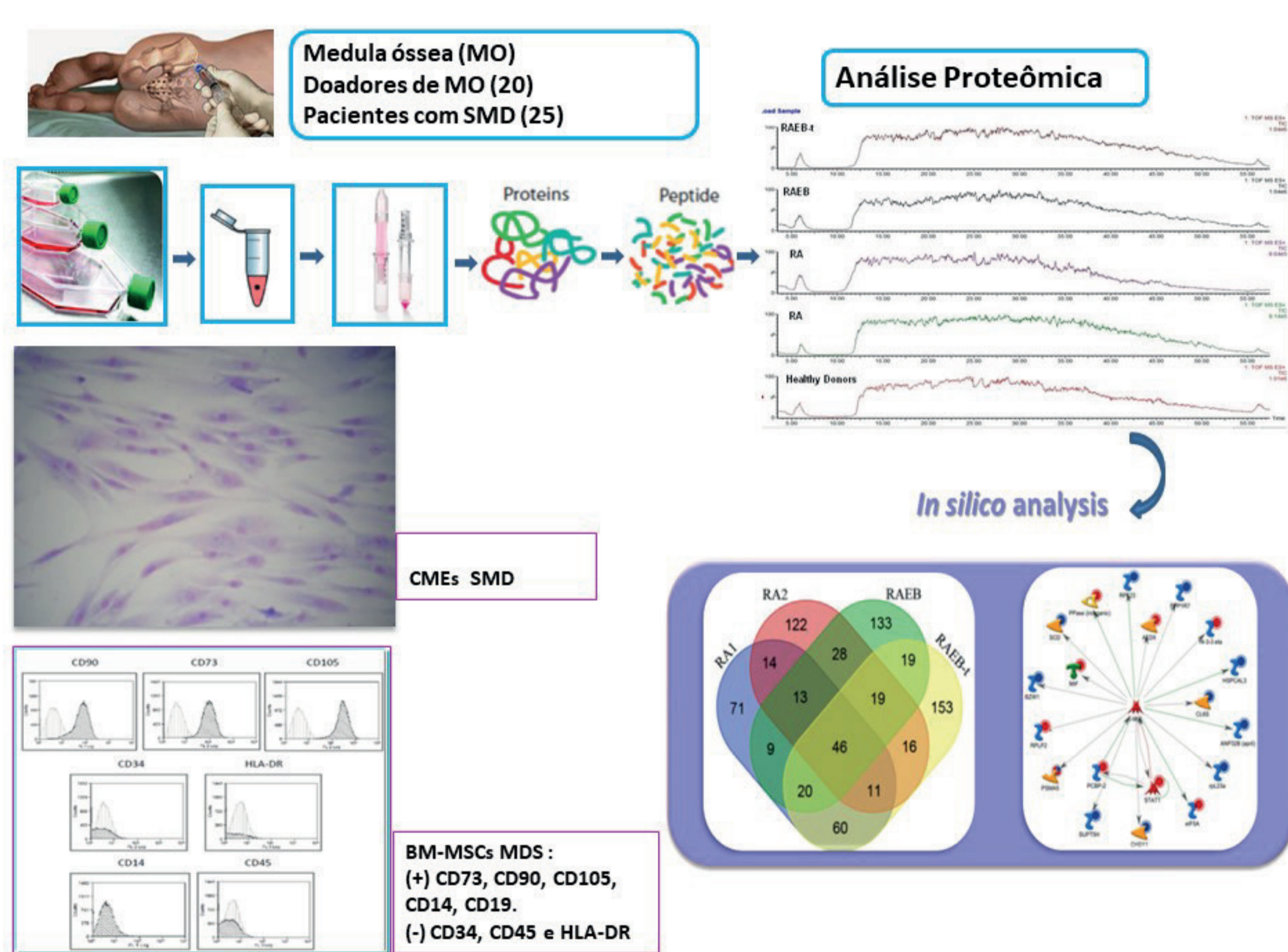


Figura 1

## RESULTADOS

Nossos resultados mostraram que as CMEs de SMD não apresentam anormalidades cromossômicas clonais (Figura 2). A análise proteômica das CMEs de SMD quando comparadas com CMEs de doadores saudáveis caracterizou a presença de 46 proteínas diferencialmente expressas, tanto no estágio inicial de SMD, quanto nos estágios avançados (Figura 3). As análises *in silico* mostraram que essas proteínas estão relacionadas aos processos biológicos: ciclo celular, apoptose, modelagem do citoesqueleto, resposta imune e "checkpoint" de dano ao DNA (Figura 4). A análise *in silico* também demonstrou, pela primeira vez, que a proteína c-Myc pode atuar como um potencial regulador positivo das 46 proteínas diferencialmente expressas encontradas (Figura 5).

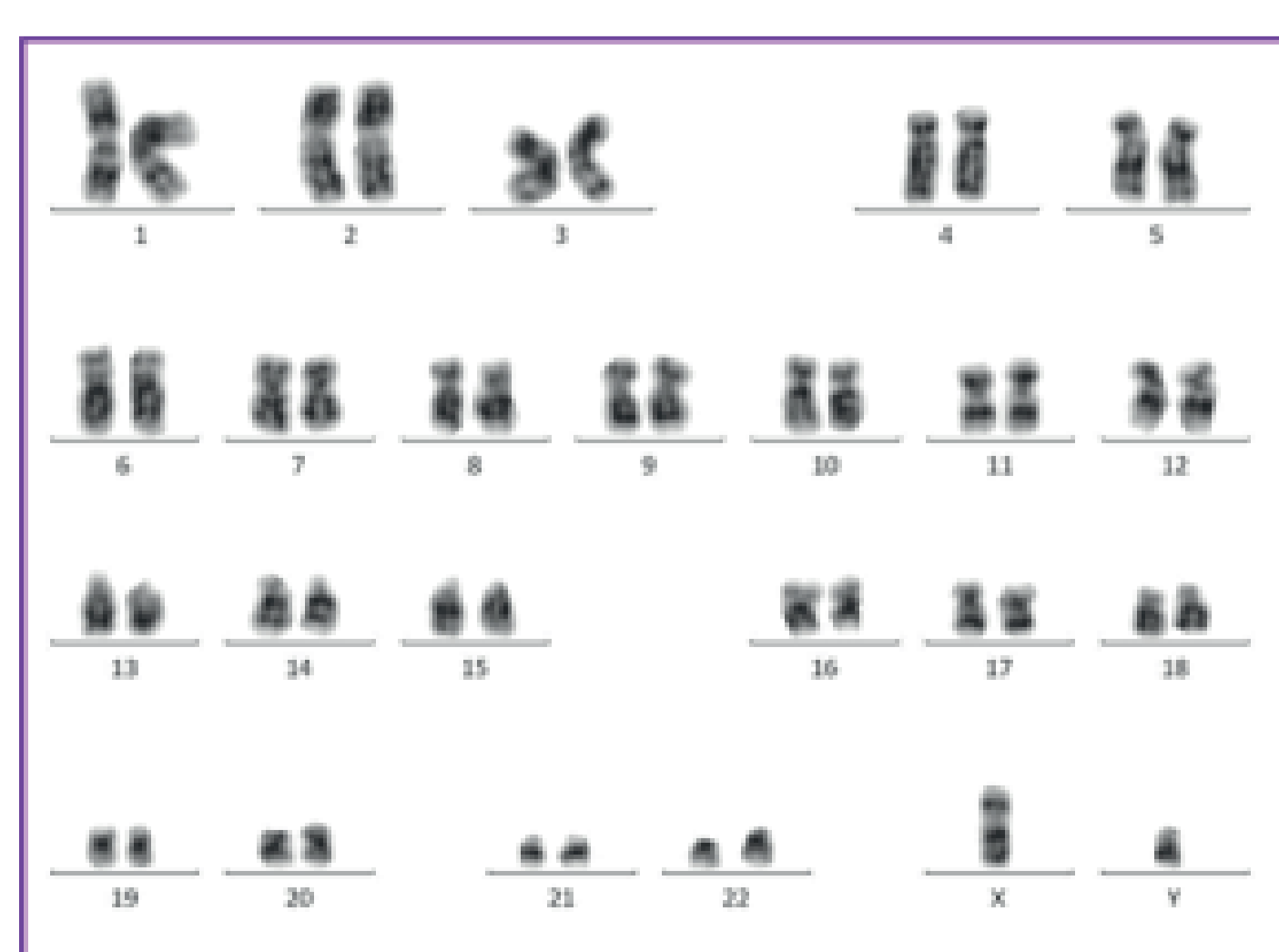


Figura 2: Cariótipo normal (bandeamento GTG) de CME de medula óssea de paciente com SMD.

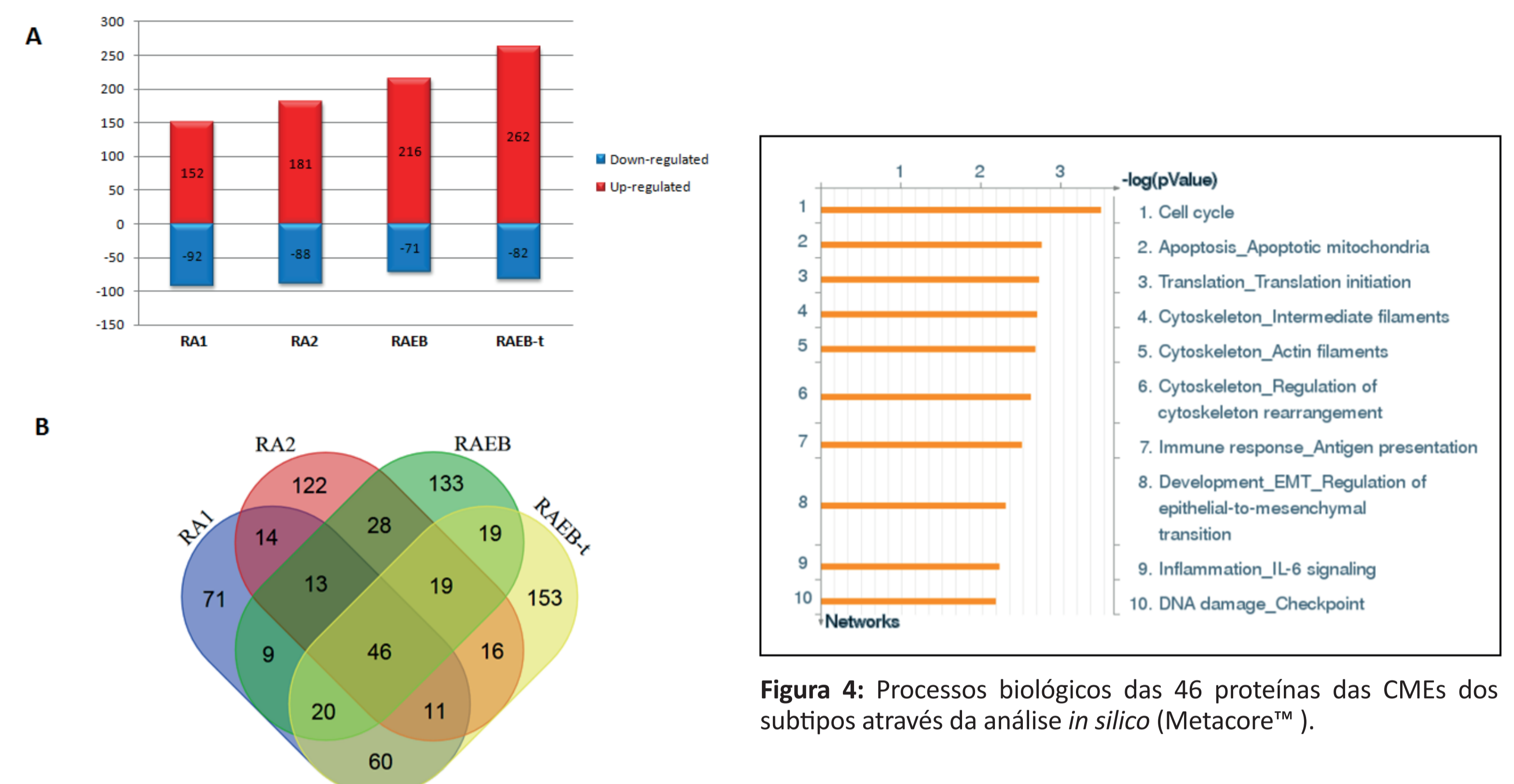


Figura 4: Processos biológicos das 46 proteínas das CMEs dos subtipos através da análise *in silico* (Metacore™).

Figura 3: Análise de expressão diferencial. (A) Análise de expressão diferencial obtida com Expression<sup>f</sup> mostrando proteínas com expressão aumentada e diminuída em CMEs de pacientes em comparação com CMEs de doadores. (B) Diagrama de Venn das proteínas diferencialmente expressas mostrando as proteínas expressas diferencialmente sobrepostas e únicas nas CMEs de SMD.

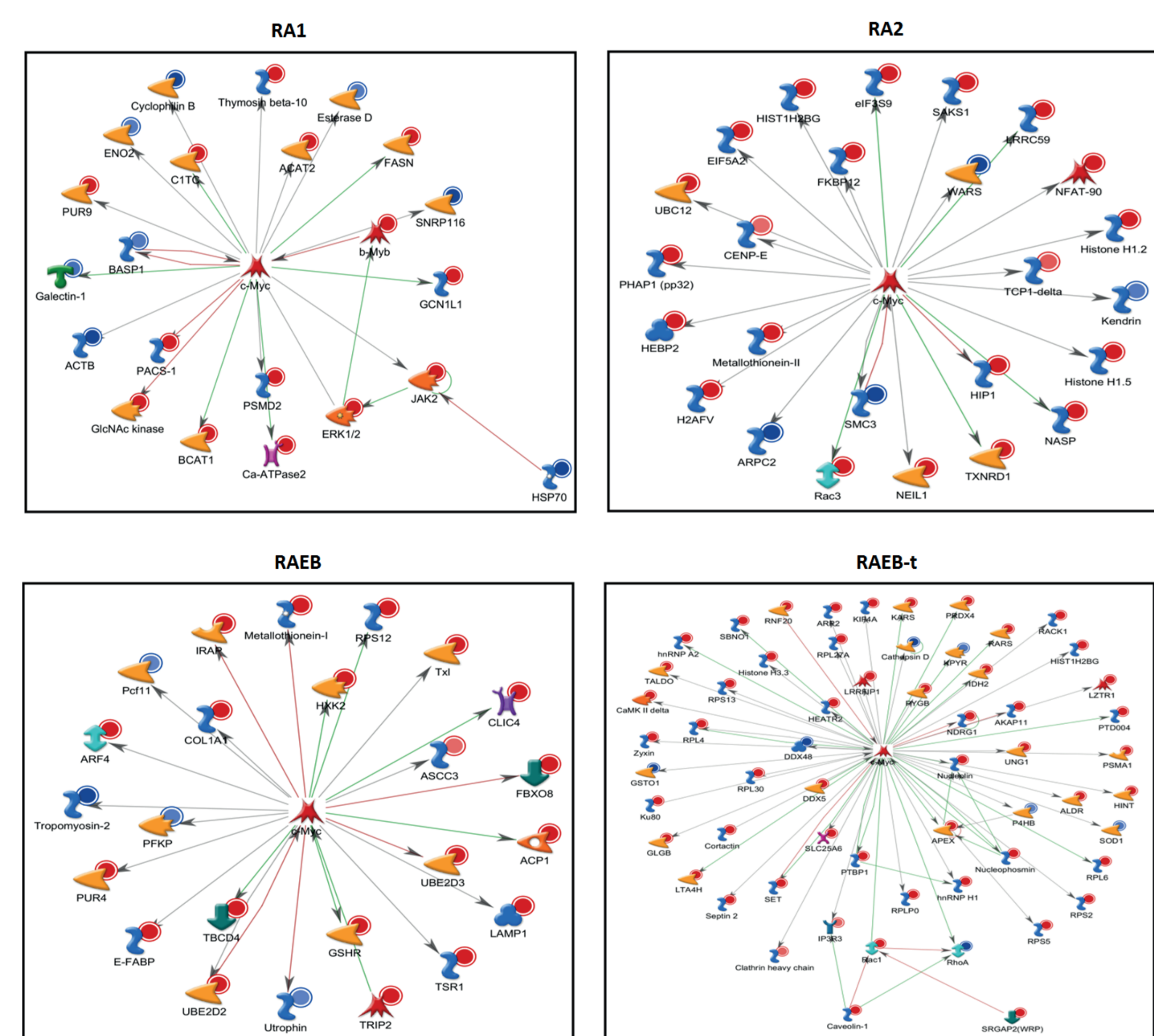


Figura 5: A análise *in silico* mostrando que a proteína c-Myc pode atuar como um potencial regulador positivo das 46 proteínas comuns expressas nos subtipos de SMD.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O conhecimento sobre o papel das CMEs durante o desenvolvimento e a evolução da SMD para a LMA ainda é limitado. Em relação a citogenética, alguns estudos mostraram ausência de alterações cromossômicas nas CMEs de SMD e outros mostraram a presença de cariótipos anormais. Em nosso estudo, não detectamos alterações cromossômicas clonais nas CMEs de SMD. Entretanto, em alguns casos, foi observada uma perda cromossômica aleatória, que não foi observada em CMEs de doadores, sugerindo uma instabilidade cromossômica nessas células. Nossos resultados sugerem que a proteína c-Myc atua como um potencial regulador positivo das proteínas diferencialmente expressas em CMEs de SMD. Observamos a presença de um maior número de proteínas reguladas por c-Myc durante a transformação leucêmica, característica da complexidade da patogênese da SMD. Esses resultados sugerem o relevante papel do microambiente medular durante a patogênese da SMD e sua provável associação com casos de recidiva da doença pós-transplante de medula óssea.

Auxílio Financeiro: Ministério da Saúde - INCA, FAPERJ, CNPq.