

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA EXPRESSÃO PROTEICA DO PLASMA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA ATRAVÉS DA ANÁLISE PROTEÔMICA

Mayara de Azeredo Rezende (ME); Nathália Corrêa de Almeida Oliveira (MsC); Eliana Abdelhay (PhD); Renata Binato (PhD)

Instituto Nacional de Câncer José Alencar da Silva Gomes – Centro de Transplante de Medula Óssea – Laboratório de Células Tronco

INTRODUÇÃO

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é a neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação anormal de células mielóides, uma diminuição no nível de apoptose e uma parada de diferenciação dessas células. A LMA possui uma heterogeneidade ampla, por isso, muitos estudos têm se acumulado nos últimos anos sobre processos leucemogênicos. Entretanto, os eventos relacionados com o início da doença assim como sua progressão, ainda não foram claramente elucidados. Na Medula Óssea (MO), a manutenção da Célula Tronco Hematopoética (CTH) e a regulação de sua auto-renovação e diferenciação *in vivo* dependem do microambiente específico ao qual está submetido, conhecido como “microambiente indutivo da hematopoiese”, representativo para a sinalização entre as células-tronco e o estroma através de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e microvesículas que interagem com as células hematopoéticas. Neste sentido, o plasma da medula óssea pode apresentar uma gama rica de proteínas que possam estar envolvidas neste processo.

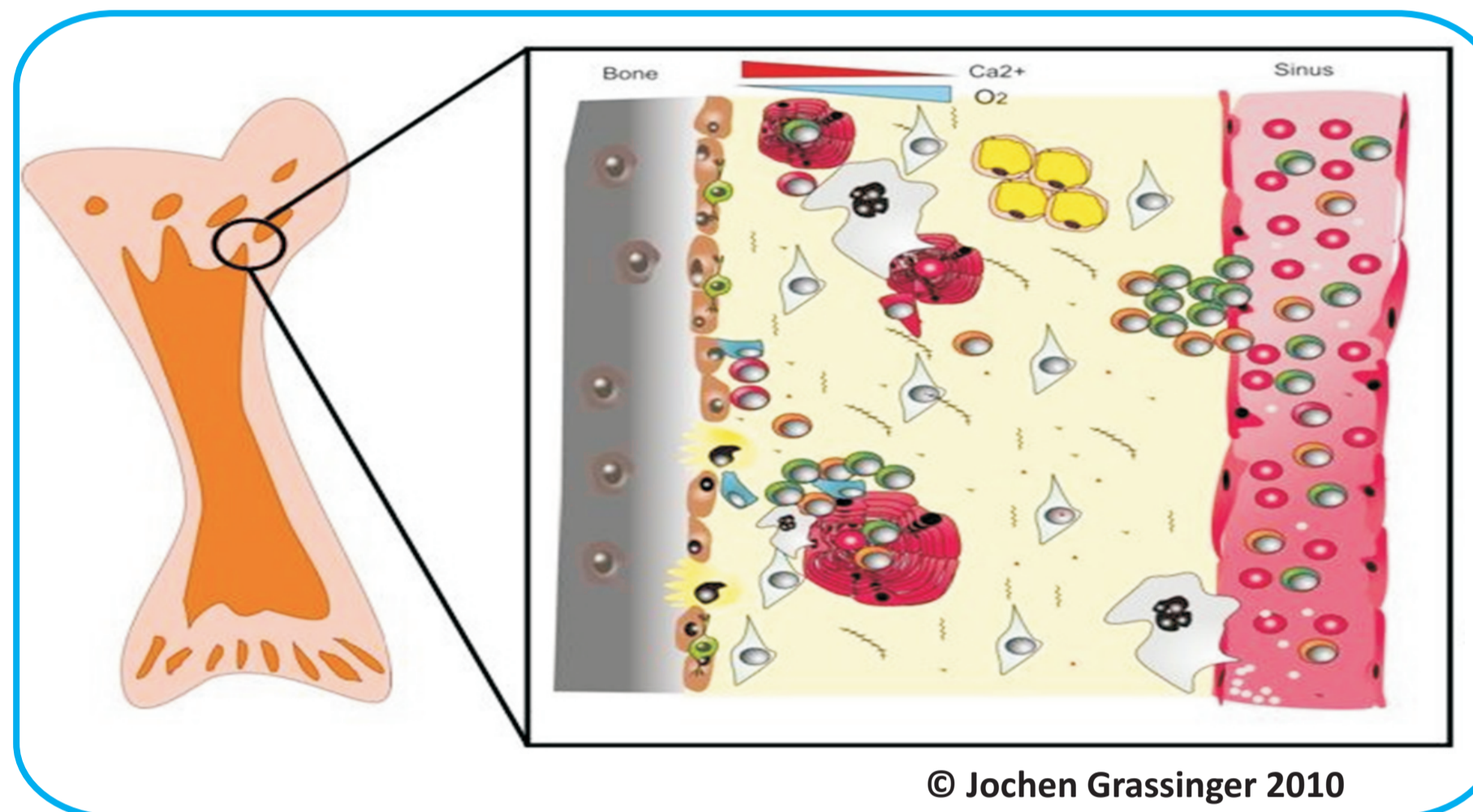


Figura 1 – Microambiente medular: Importante na manutenção e auto-renovação de células-tronco leucêmicas através da comunicação dessas com o estroma medular por fatores de crescimento, quimiocinas, citocinas, dentre outros.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar o perfil proteico através do estudo proteômico de amostras do plasma da Medula Óssea de pacientes portadores de LMA e comparar com o perfil proteico do plasma da Medula Óssea de doadores saudáveis.

METODOLOGIA

Caracterização imunofenotípica por citometria de fluxo

Tabela 1: Anticorpos utilizados na caracterização imunofenotípica das amostras por citometria de fluxo

Marcadores para LMA								
FITC	PE	PERCP	PECy7	APC	APC7	V450	V500	
MPO	icCD79a	CD34	CD19	CD45	icCD3	-	-	
CD15	CD33	CD34	CD45	CD117	-	HLA-DR	-	
CD16	CD13	CD34	CD45	CD11b	CD10	-	-	
CD20	CD34	CD19	CD45	CD10	CD38	-	-	
CD14	IREM	CD34	CD45	CD64	-	-	-	
HLA-DR	CD34	CD123	-	CD45	CD4	-	-	
CD36	CD105	CD34	CD45	CD117	CD71	-	-	
CD61	CD25	CD117	-	CD42b	CD41	-	-	

Separação, preparação e análise proteômica do plasma

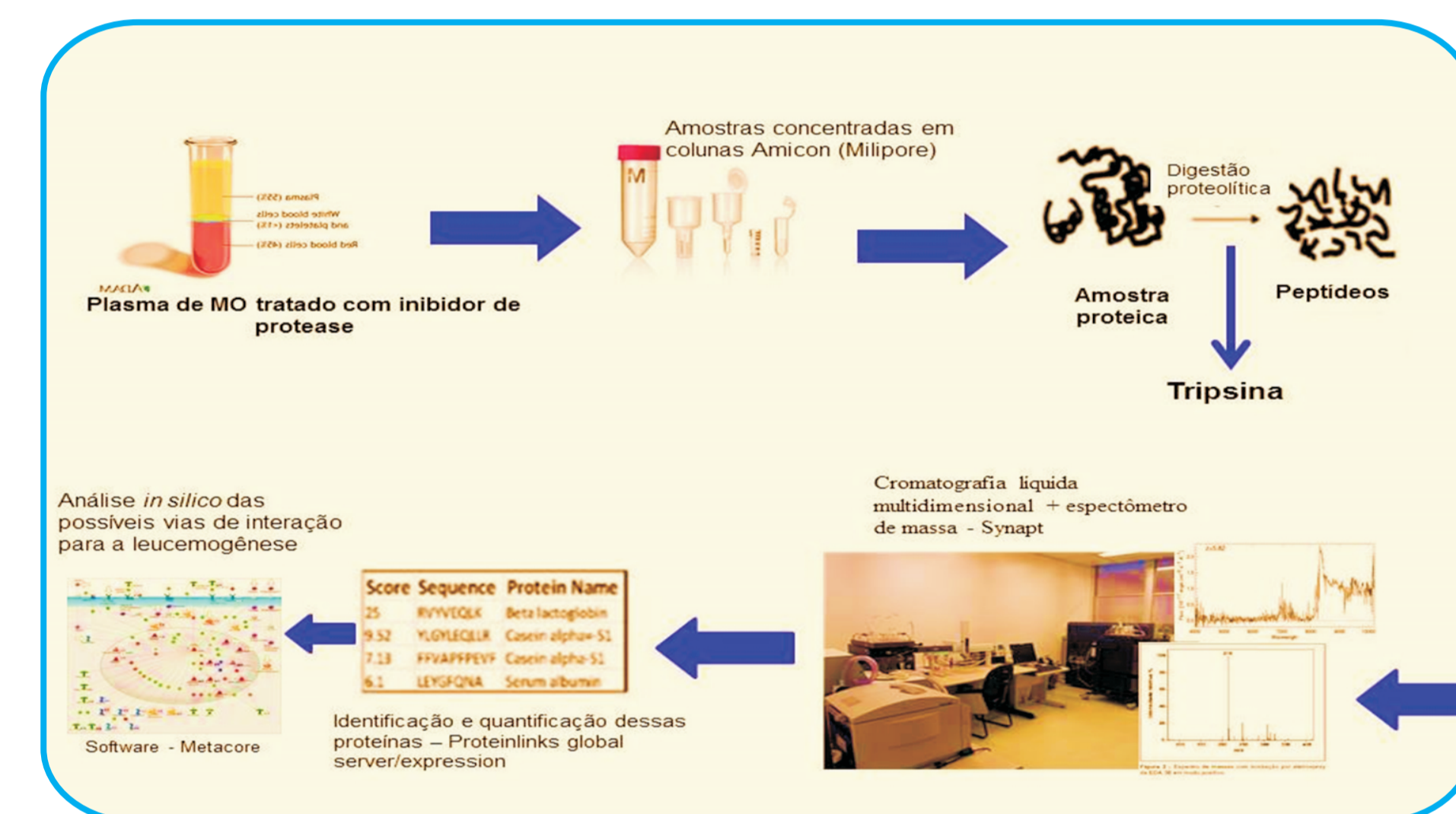


Figura 2 – Esquema do processamento do plasma da MO para avaliação proteômica.

RESULTADOS

Caracterização imunofenotípica das amostras de LMA e de Doador

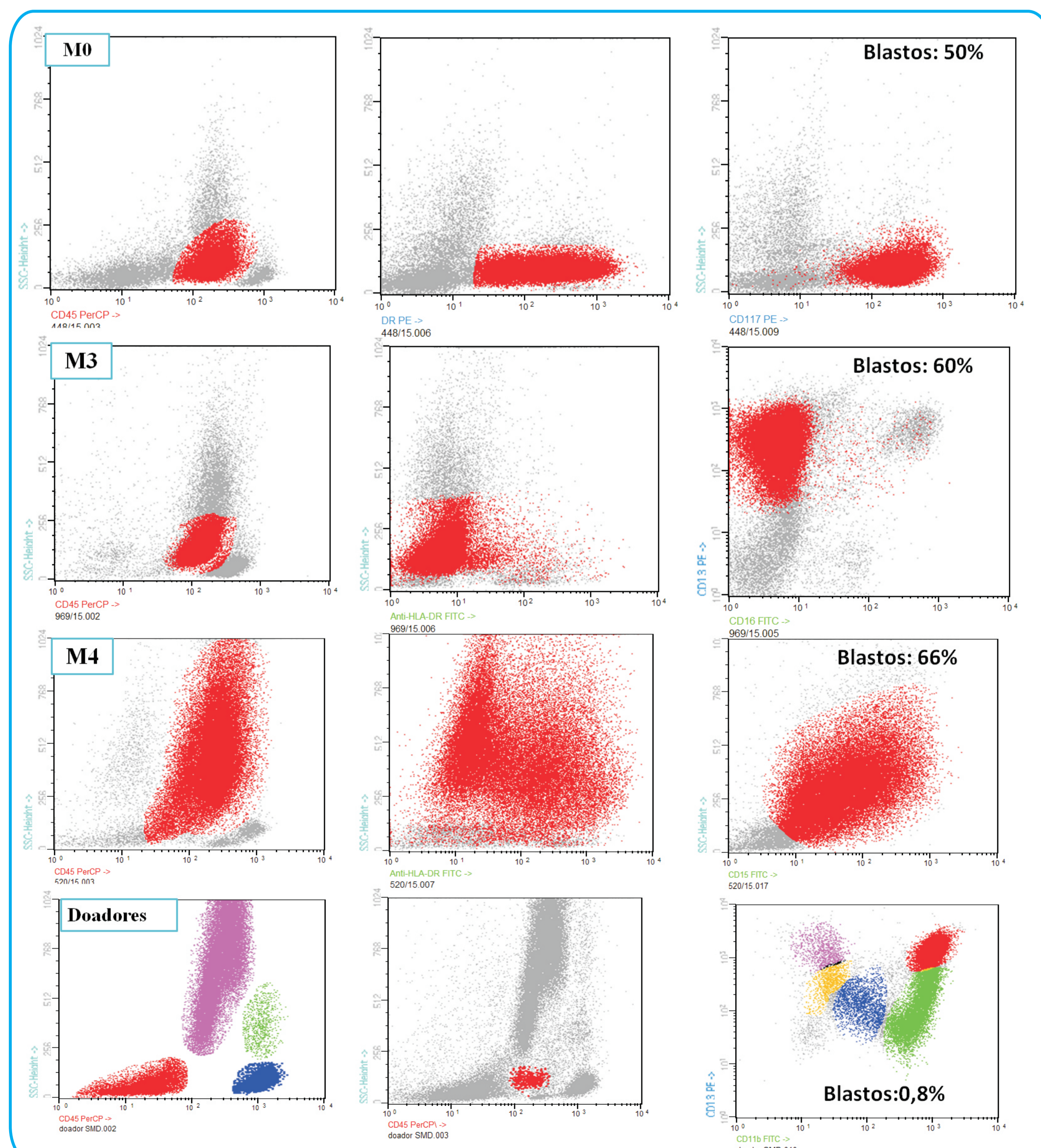


Figura 3 – Imunofenotipagem por citometria de fluxo: caracterização imunofenotípica de pacientes com LMAs (de acordo com a classificação FAB) e de doadores saudáveis.

Pacientes Selecionados para análise proteômica

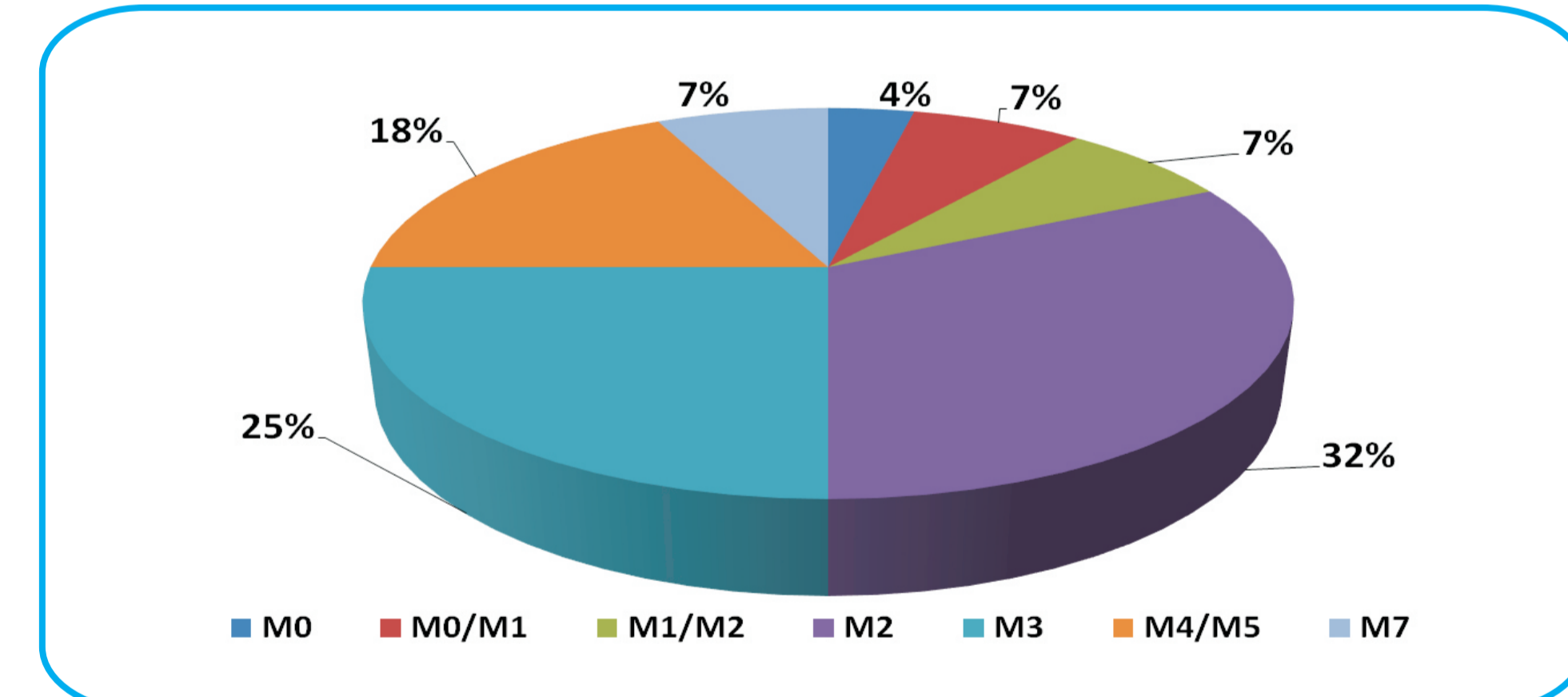


Figura 4 – Distribuição dos 22 pacientes com LMA (de acordo com a classificação FAB) selecionados para análise proteômica.

Qualidade das amostras para análise proteômica

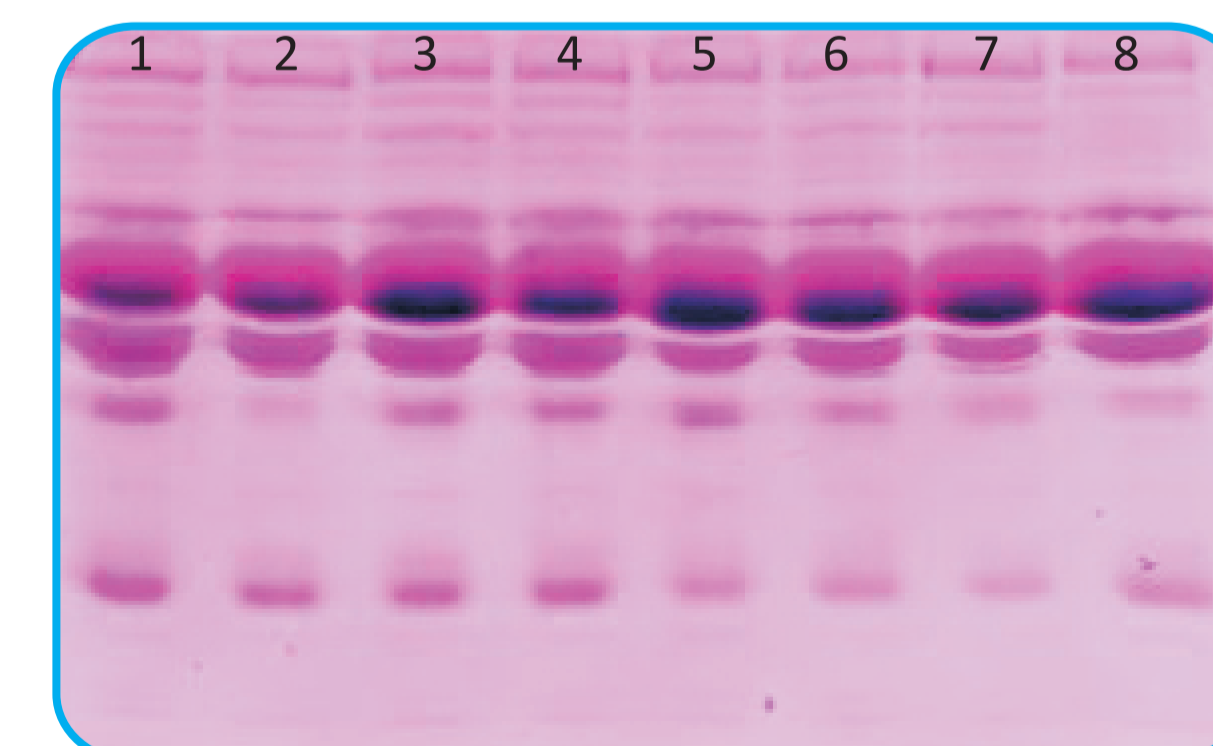


Figura 5 – Gel SDS-page 10% das amostras selecionadas para análise proteômica. (1) LMA M0; (2) LMA M0/M1; (3) LMA M1/M2; (4) LMA M2; (5) LMA M3; (6) LMA M4/M5; (7) LMA M7; (8) DOADORES

PERSPECTIVAS

A partir da identificação das proteínas diferencialmente expressas no plasma de Medula Óssea dos pacientes com LMA em comparação com o plasma da Medula Óssea de doadores realizaremos análises *in silico* como o auxílio do software Metacore™, no intuito de identificar as interações das proteínas assim como as vias de sinalização nas quais as proteínas diferencialmente expressas estão inseridas. A validação dos resultados será realizada, individualmente, em uma gama maior de pacientes, por Western-Blot e Elisa.

Projeto Gráfico: Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica / INCA