

# Perfil Biomolecular do Derrame Pleural Maligno Experimentalmente Induzido: Frequência de Mutações e Impacto de Terapias-Alvo

**JULIANA PUKA**

Orientador: Profa. Dra. Lisete Ribeiro Teixeira  
Programa de Pneumologia

## RESUMO

**Puka J.** *Perfil biomolecular do derrame pleural maligno experimentalmente induzido: frequência de mutações e impacto de terapias-alvo [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.*

**Introdução:** O câncer de pulmão é a principal causa de morte por câncer em todo o mundo e muitos pacientes apresentam derrame pleural em um estágio avançado da doença, com alta morbidade e mortalidade. Entretanto, a patogênese do derrame maligno é ainda pouco compreendida e as opções terapêuticas são limitadas. **Metodologia:** Foi utilizado modelo de neoplasia pleural com camundongos C57BL/6 e células de Lewis (LLC) dividido em duas etapas: estudo com diferentes concentrações de células LLC (0,1, 0,5 e 1,5x10<sup>5</sup>) e avaliação de terapias-alvo. Após a padronização do modelo, quatro grupos de camundongos receberam tratamento intrapleural com anti-VEGF, anti-EGFR, anti-VEGF+anti-EGFR ou solução fisiológica (não tratados) 3, 7, 10 e 14 dias após a indução da neoplasia pleural com 0,5x10<sup>5</sup> células LLC. Em vinte animais de cada grupo foi avaliada a curva de sobrevivência. 160 animais foram submetidos à eutanásia 7, 10, 14 ou 21 dias após e avaliados peso, mobilidade, volume de líquido pleural, marcadores inflamatórios, imunológicos e bioquímicos no líquido, presença de tumores e alterações histológicas em pleura, pulmão, rim, fígado e baço. Através de imunohistoquímica avaliou-se apoptose, proliferação tumoral, VEGF e EGFR. Analisou-se a expressão gênica do EGFR, VEGF, KRAS e ALK e a frequência de mutações do EGFR e KRAS. Análise estatística: One Way ANOVA, Kaplan-Meier, p<0,05. **Resultados:** Na etapa de padronização do modelo observamos que a concentração que

manteve os parâmetros de neoplasia pleural com maior sobrevida foi de  $0,5 \times 10^5$  células LLC. Na segunda etapa do estudo, a carcinomatose pleural foi letal com sobrevida máxima de 25 dias, sem diferença entre os grupos. Redução de peso foi observada em todos os grupos após 21 dias. A mobilidade foi melhor nos grupos que receberam anti-EGFR. O volume de líquido pleural foi maior no grupo não tratado durante todo o estudo. Parâmetros imunológicos e bioquímicos aumentaram temporalmente sendo mais evidentes no grupo sem tratamento. Implantes tumorais na pleura foram mais evidentes no grupo não tratado após 14 dias. A inflamação pulmonar foi mínima em todos os grupos. No grupo não tratado observou-se implantes tumorais no pericárdio e músculo cardíaco após 21 dias, esteatose hepática e renal após 14 dias e hiperplasia de polpa branca do baço no 21º dia. Altos índices de apoptose e menores índices de proliferação tumoral foram observados nos grupos que receberam tratamento com anti-EGFR e anti-VEGF+anti-EGFR. Houve mutação do gene KRAS e superexpressão gênica tumoral do EGFR e do KRAS. **Conclusão:** As terapias-alvo reduziram significativamente o derrame pleural, morbidade e parâmetros histológicos, embora sem impacto na sobrevida dos animais neste modelo experimental. Nossos dados indicam que a linhagem tumoral LLC possui um fenótipo tumoral agressivo demonstrado através da mutação do KRAS e superexpressão do EGFR, o que pode estar associado ao pior prognóstico e menor resposta aos inibidores do EGFR.

**Descritores:** derrame pleural maligno; adenocarcinoma; pleura; modelos animais; carcinoma pulmonar de Lewis; terapia combinada.