

# Avaliação citogenética molecular de células do líquido pleural de pacientes com derrame pleural maligno

DÉBORA CRISTINA BATISTA ROSOLEN

Orientadora: Profa Dra Leila Antonangelo  
Programa de Pneumologia

## Resumo

**Rosolen DCB.** *Avaliação citogenética molecular de células do líquido pleural de pacientes com derrame pleural maligno. [Tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.*

**Introdução:** O diagnóstico de derrame pleural maligno (DPM) se baseia no achado de células tumorais no líquido ou no tecido pleural. Resultados falsos positivos ou falsos negativos influenciam na escolha da melhor conduta terapêutica a ser tomada, além de alterar substancialmente o prognóstico desses pacientes. A sensibilidade do exame citológico é geralmente inferior a 70%, motivo pelo qual, métodos complementares são frequentemente associados. Fatores como tipo histológico, sítio primário e grau de invasibilidade do tumor são os principais responsáveis por esta variação. Dentre os exames complementares propostos, destacam-se a dosagem de marcadores tumorais no líquido pleural (LP), as técnicas citoquímicas, imunocitoquímicas e de marcadores de proliferação celular em células do LP, a análise da ploidia de DNA por citometria de fluxo (CF) ou estática (CE) e, mais recentemente, as técnicas de citogenética e de biologia molecular, como a técnica de hibridação in situ por fluorescência (FISH) e a técnica de amplificação multiplex por sondas ligação – dependentes (MLPA) estas, capazes de detectar alterações em regiões gênicas consideradas “alvo” para o desfecho neoplásico. **Objetivos:** 1) Padronizar as técnicas de DNA ploidia, FISH e MLPA e m amostras frescas de líquido pleural; 2) Testar a eficiência diagnóstica dos métodos da DNA ploidia e da FISH no diagnóstico de derrame pleural maligno e 3) Avaliar alterações no número de cópias no gene EGFR em metástases pleurais utilizando a técnica de MLPA. **Métodos:** Foram incluídos 200 pacientes

adultos portadores de derrame pleural (DP) com indicação de toracocentese. O diagnóstico histológico foi o padrão ouro para malignidade. Características clínicas, radiológicas, histológicas e de seguimento clínico foram considerados para a exclusão de malignidade, de maneira que 130 casos foram classificados como malignos e 70 como benignos. As 200 amostras de LP foram submetidas ao exame citológico e à FISH utilizando sondas centroméricas para os cromossomos 11 e 17. A análise da ploidia de DNA por CF foi realizada em 45 casos de DP e a MLPA com o kit do gene do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) em 50 casos.

**Resultados:** A análise da ploidia de DNA por CF apresentou sensibilidade inferior ao exame citológico com especificidade próxima (57,0% vs 96,2%; 70,0% vs 66,7%, respectivamente). A FISH isoladamente apresentou sensibilidade de 98,5% e especificidade de 98,6% e de 98,0% e 99,% quando associada ao exame citológico, com apenas um caso falso positivo e dois casos falsos negativos. A técnica de MLPA, padronizada para LP, demonstrou alterações na sequência do gene do EGFR em 28,2% dos casos malignos. Nenhuma amostra de líquido pleural dos casos benignos (controle) apresentou alteração no número de cópias e/ou rearranjos estruturais. **Conclusão:** A análise citogenética de amostras frescas de líquido pleural por FISH é um valioso complemento ao exame citológico no diagnóstico de derrame pleural maligno, particularmente nos casos em que o resultado da citologia oncótica é inconclusiva.

**Descritores:** Derrame pleural maligno, citologia, ploidia de DNA, hibridação in situ por fluorescência, amplificação multiplex por sondas ligação - dependentes