

III Congresso Nacional Ciências Biomédicas Laboratoriais



BIOMARCADORES DE EFEITO E AS SUAS POTENCIALIDADES NO DIAGNÓSTICO

Carina Ladeira

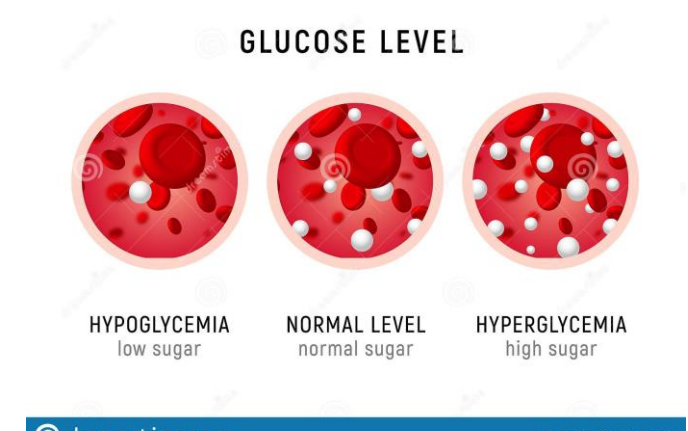
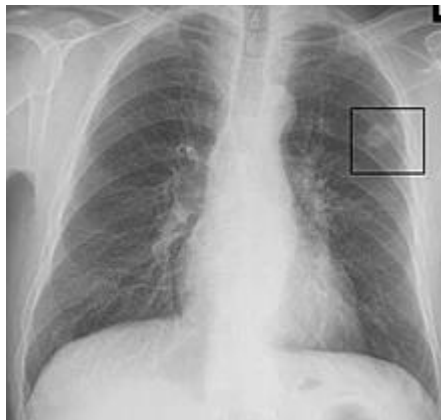
Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

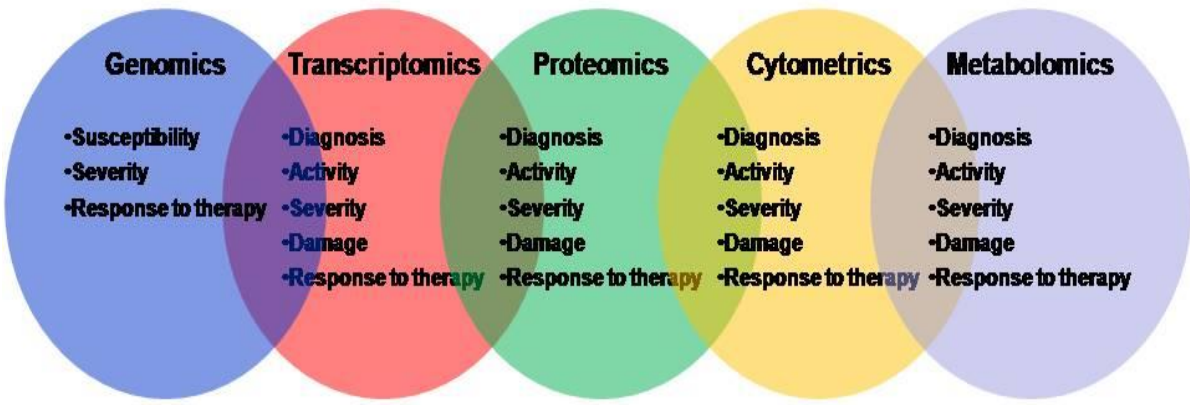
26 de Outubro 2019



BIOMARCADORES

- Alterações celulares, bioquímicas ou moleculares mensuráveis em meios biológicos, tais como tecidos, células ou fluídos.
- Determinantes quantificáveis de eventos biológicos que permitem a discriminação entre condições biológicas normais e anormais.
- Idealmente devem ser acessíveis, não invasivos, não destrutivos e fáceis de quantificar e pouco dispendiosos.





Multidimensional understanding of the disease biology

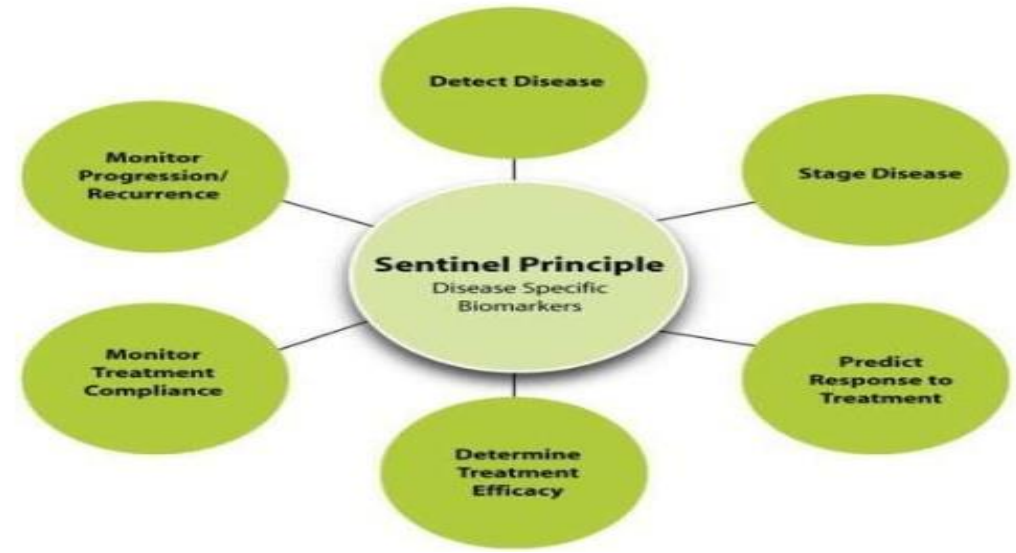


Disease etiology/pathogenesis

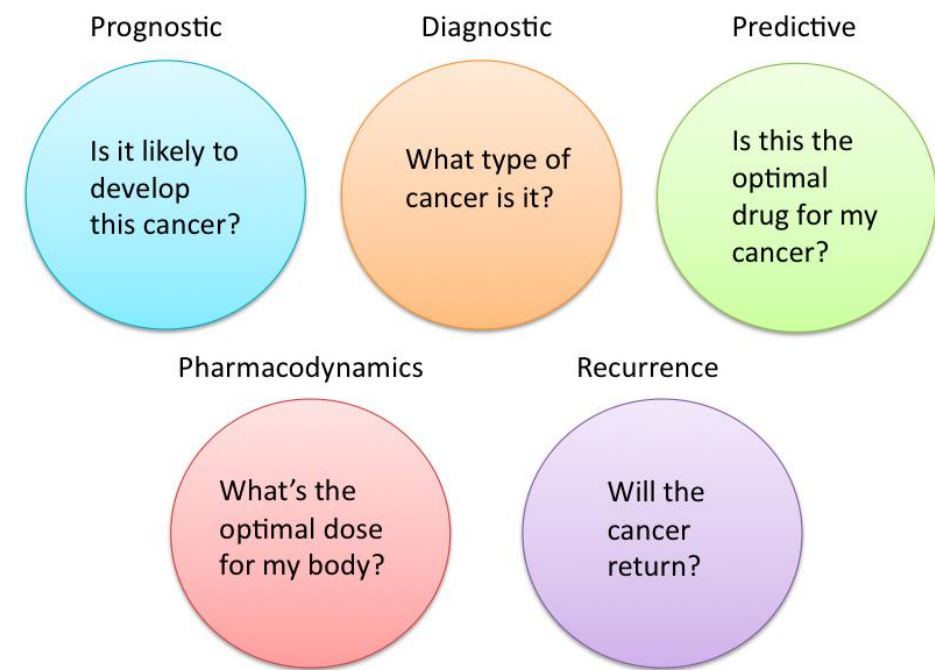


FDA-NIH Biomarker Working Group, 2016.

DISEASE RELATED BIOMARKERS



Questions that can be answered by cancer biomarkers



BIOMARCADORES TUMORAIS

- Proteínas e proteínas conjugadas (enzimas, hormonas, fragmentos de proteínas), péptidos ou hidratos de carbono.
- Substâncias bioquímicas associadas com a carcinogénese.
- Podem ser produzidos pelas células cancerígenas ou pelo indivíduo em resposta ao cancro.
- Existem 3 tipos principais de marcadores tumorais que são libertados na circulação e medidos, normalmente em amostras de sangue:

Marcador tumoral	Exemplo
Enzima	Ag específico da próstata (PSA), Fosfatase ácida prostática (PAP)
Hormona	Gonadotrofina coriónica humana (HCG); Calcitonina, Hormona adenocorticotrópica (ACTH)
Glicoproteínas oncofetais	Alfa-fetoproteína (AFP); Ag carcinoembrionário (CEA); Ag polipéptico (específico) tecidular (TPA, TPS, CK 18)
Outras glicoproteínas	Ag do cancro da mama CA 15-3; cancro do ovário CA 125; cancro do pâncreas e colorectal CA 19-9

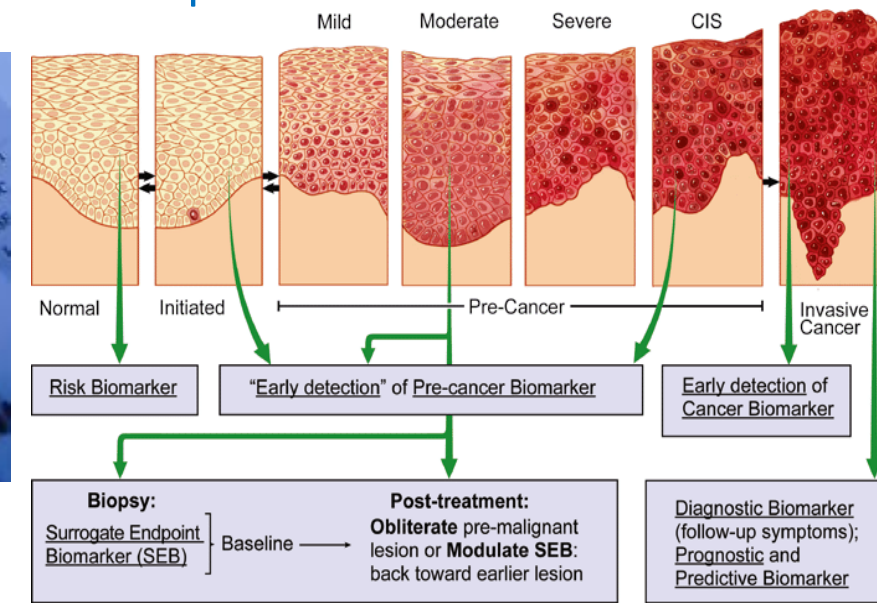
BIOMARCADORES TUMORAIS

- Associados com mutações genéticas ou alterações epigenéticas.
- Oferecem uma forma quantitativa de determinar quando os indivíduos apresentam uma **predisposição** para determinados tipos de cancro.
- Exemplos de potenciais biomarcadores preditivos de cancro incluem mutações nos genes:

Mutações	Tipo de cancro
KRAS, p53, EGFR, ERBB2	Cólon, esófago, fígado e pâncreas.
BRCA1 e BRCA2	Mama e ovário.
Padrões de metilação anormais de genes supressores de tumor P16, CDKN2B e P14ARF	Cérebro.
Hipermetilação de MYOD1, CDH1 e CDH13	Cervical.
Hipermetilação de P16, P14 e RB1	Oral.

BIOMARCADORES TUMORAIS

- **Diagnóstico** – facilitar o diagnóstico, identificação de estadios iniciais de carcinogénese.
- Estabelecimento de diagnósticos específicos.
- Diagnóstico diferencial de tumores com origem primária ou origem metastática.
- *Screening* de alterações cromossómicas em células localizadas nos tumores primários vs tumores secundários.
- Se essas alterações forem idênticas, o tumor secundário é identificado como metastático, se diferirem o tumor secundário é identificado como distinto do tumor primário.



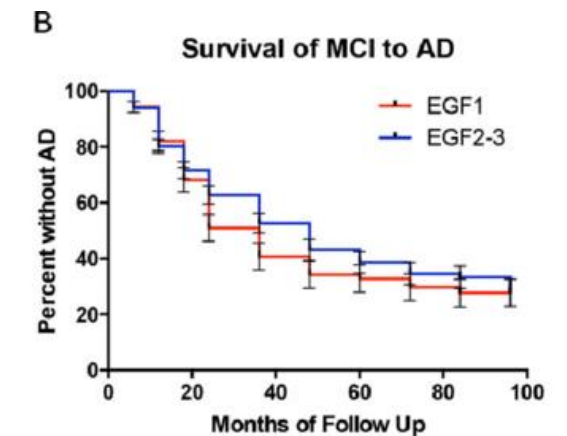
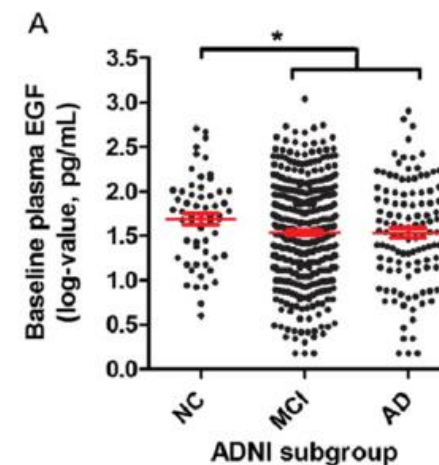
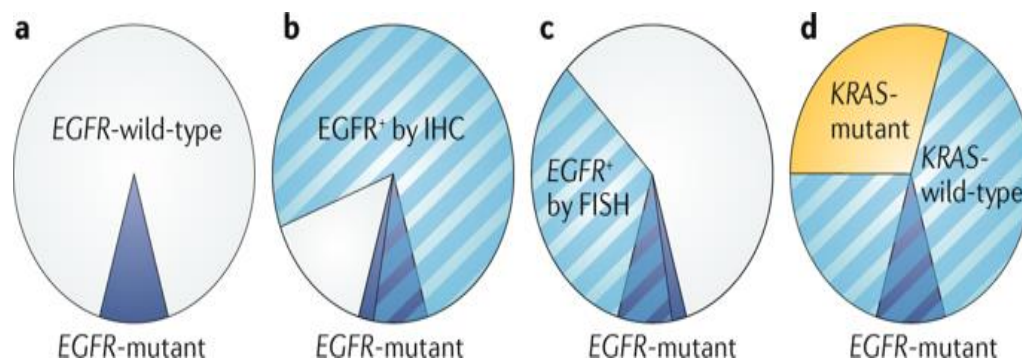
BIOMARCADORES TUMORAIS

- **Prognóstico** – determinar a agressividade da neoplasia na ausência de terapêutica.
- Determinação da agressividade e da eventual taxa de resposta à terapêutica.
- Tumores que exibem determinados biomarcadores são responsivos a determinados tratamentos.

Biomarcador	Indicação
Inibidor da metalopeptidase 1 (TIMP1)	↑Níveis associados a formas mais agressivas de mieloma múltiplo.
ER e PR	↑Níveis associados a maior taxa de sobrevivência em pacientes com cancro da mama.
HER2/neu (amplificação)	Indicador de resposta a terapia com Trastuzumab em pacientes com cancro da mama.
Mutação no exão 11 do proto-oncogene C-KIT	Indicador de resposta a terapia com Imatinib em pacientes com GIST.
Mutações no EGFR1 da tirosina cinase	Indicador de resposta a terapia com Gefitinib ou Erlotinib em carcinoma do pulmão de não pequenas células.

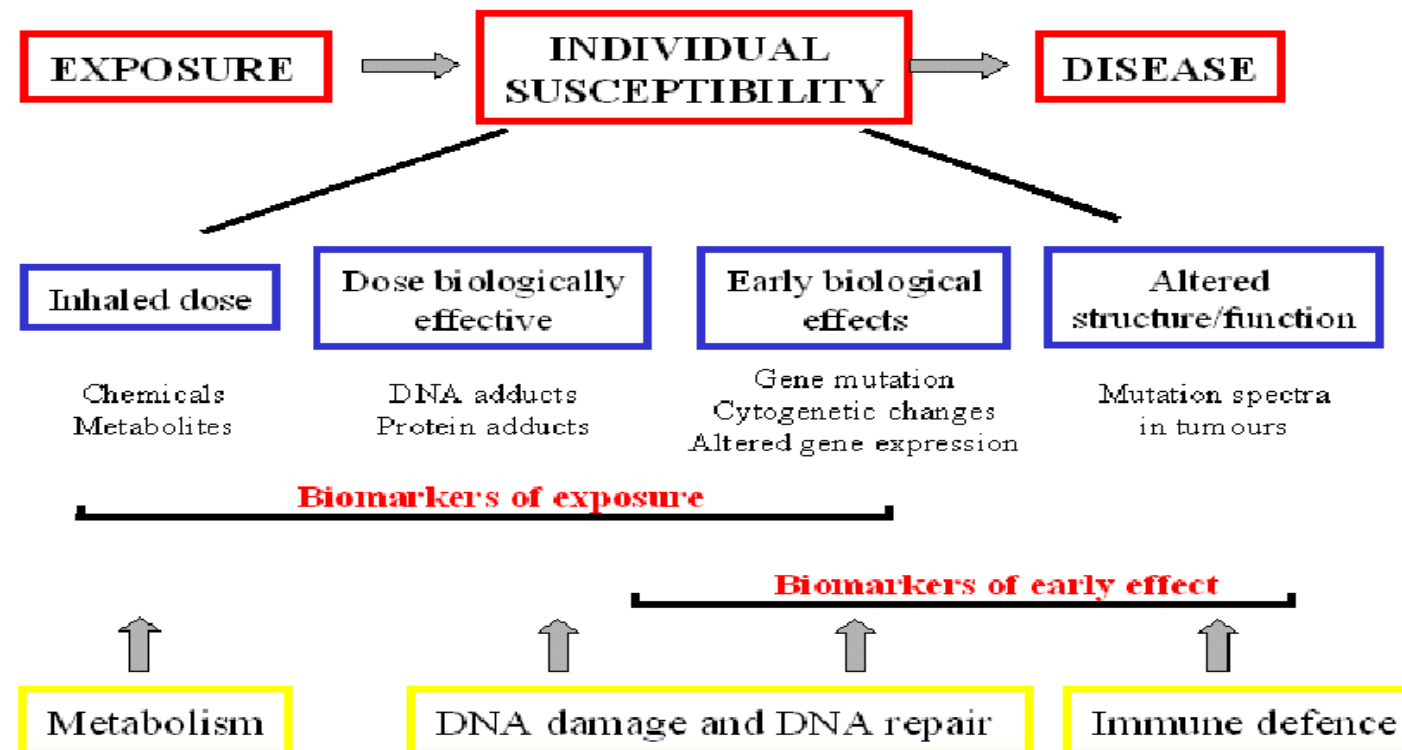
BIOMARCADORES TUMORAIS

- **Predição** – forma que o paciente irá responder à terapêutica.
- *Follow-up* do tratamento.
- S100 beta - proteína de resposta a melanoma maligno.
- \uparrow [s100-beta] -> dependente do número de células cancerígenas.
- \downarrow [s100-beta] no sangue -> resposta positiva à terapêutica.
- Macromoléculas: citocromo c, nucleossomas, citoqueratina 18 e e-caderina são libertadas em processos de apoptose.



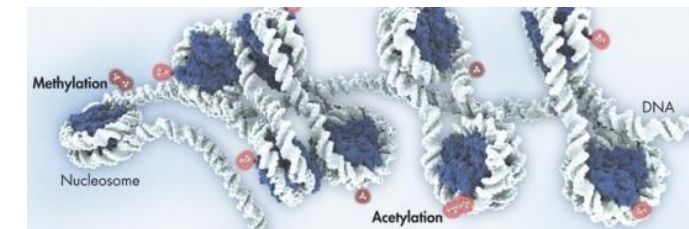
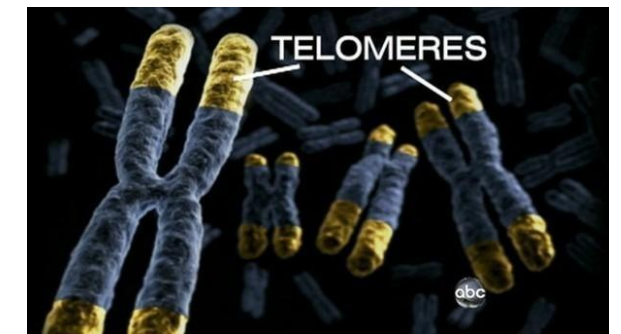
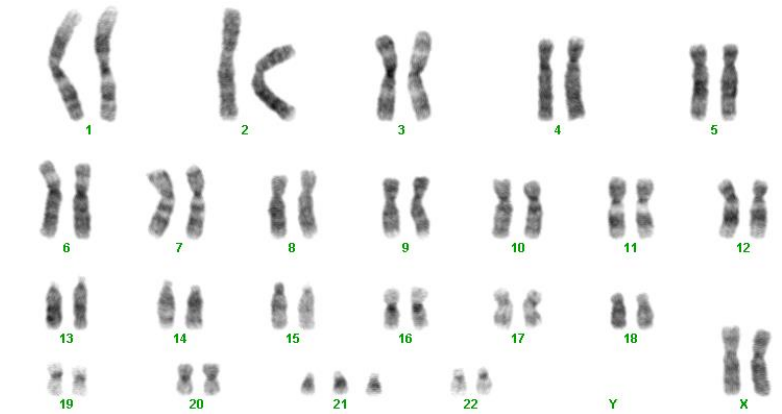
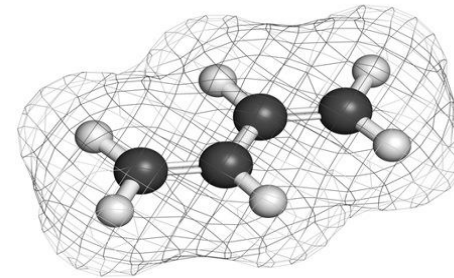
BIOMARCADORES DE EFEITO

- Parâmetro biológico, medido no organismo, o qual reflete a interação da substância química com os recetores biológicos.
- Na prevenção, um biomarcador de efeito considerado ideal, é aquele que mede uma alteração biológica em um estágio ainda reversível (ou precoce), quando ainda não representa agravo à saúde.



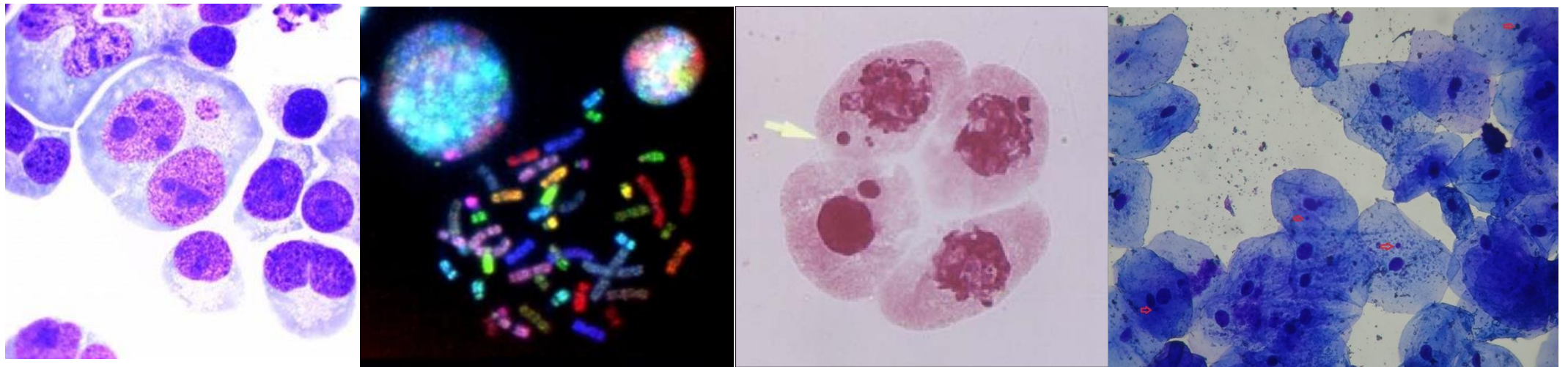
BIOMARCADORES CITOGENÉTICOS

- Biomarcadores de dano de DNA correntemente utilizados em estudos de células humanas *in vitro* ou *in vivo*:
- Quebras nas cadeias de DNA.
- Aberrações cromossómicas.
- CBMN assay.
- Aneuploidia.
- Encurtamento de telómeros.
- Adutos de DNA.
- Oxidação de DNA.
- Metilação de DNA, entre outros.
- Aberrações cromossómicas, as trocas de cromátídeos-irmãos e os micronúcleos em linfócitos do sangue periférico são muito utilizados como biomarcadores citogenéticos de efeitos genotóxicos.



BIOMARCADORES CITOGENÉTICOS

- Evidência empírica de correlação entre risco de cancro e dano citogenético.
- Rearranjos cromossómicos desempenham um papel relevante na ativação de proto-oncogenes e na inativação de genes supressores de tumor.
- Indivíduos com doenças congénitas – anemia de Fanconi, possuem taxas elevadas de aberrações cromossómicas e elevada incidência de patologias malignas.
- Alterações de cariótipo encontram-se em todos os tipos de células neoplásicas e são frequentemente específicas para categorias de diagnóstico particulares.



Impact of Types of Lymphocyte Chromosomal Aberrations on Human Cancer Risk: Results from Nordic and Italian Cohorts

Lars Hagmar,¹ Ulf Strömberg,¹ Stefano Bonassi,² Inger-Lise Hansteen,³ Lisbeth Ehlert Knudsen,⁴ Carita Lindholm,⁵ and Hannu Norppa⁶

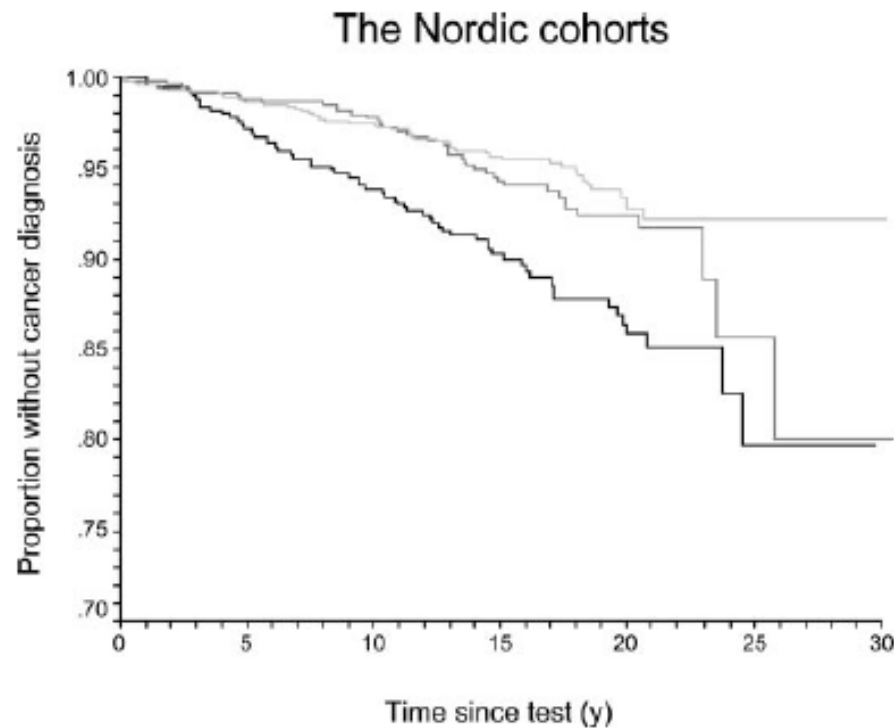


Fig. 1. Kaplan-Meier curves for total cancer incidence observed in the Nordic cohorts, with respect to the chromosomal aberration results at test (*light gray curve*, low; *dark gray curve*, medium; *black curve*, high).

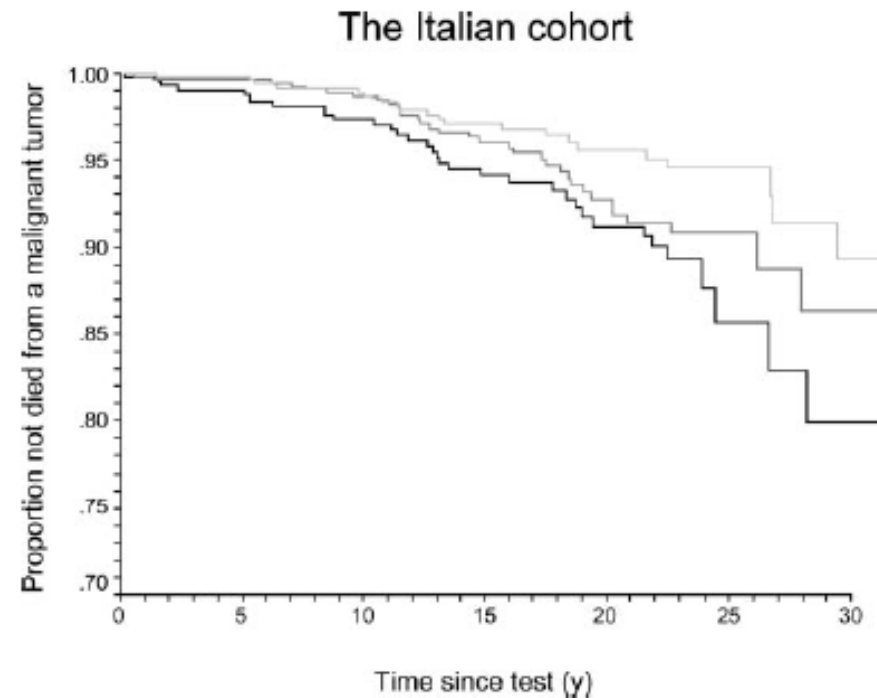


Fig. 3. Kaplan-Meier curves for total cancer mortality observed in the Italian cohort, with respect to the chromosomal aberrations results at test (*light gray curve*, low; *dark gray curve*, medium; *black curve*, high).

Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries

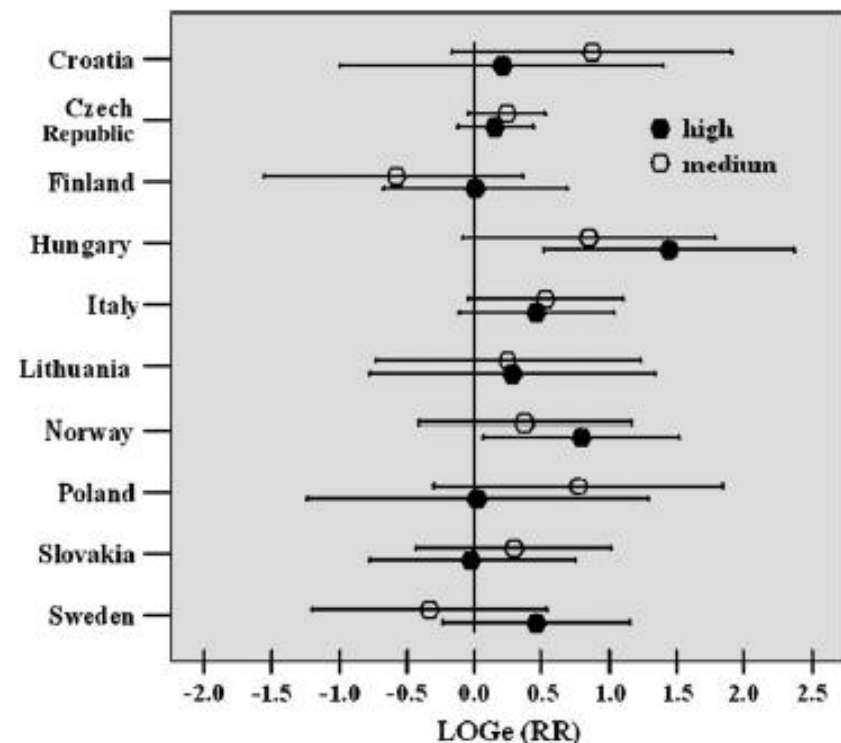


Fig. 1. Country-specific RR of cancer by frequency of CAs. RR was adjusted for gender, age, time since test, job exposure and smoking habit and was expressed in log scale to improve the readability of the figure. Symbols indicate RR by CA category, bars represent CIs. Reference category is the low tertile. RRs from Denmark could not be estimated because no cancer cases occurred in the reference group.

Table III. Cancer-specific RRs for frequency of CAs

Cancer site (ICD IX)	CA tertile									
	Low ^a		Medium			High				
	Cases	RR	95% CI	Cases	RR	95% CI	Cases	RR	95% CI	
All cancers (140–208)	152	240	1.31	1.07–1.60	283	1.41	1.16–1.72			
Mouth and pharynx (140–149)	7	5	0.55	0.17–1.74	15	1.47	0.60–3.63			
Stomach (151)	5	7	1.17	0.37–3.70	20	3.13	1.17–8.39			
Colon and rectum (153–154)	20	31	1.24	0.71–2.18	37	1.30	0.75–2.24			
Liver and biliary ducts (155–156)	4	4	0.85	0.21–3.42	11	2.13	0.68–6.74			
Pancreas (157)	3	6	1.66	0.42–6.66	7	1.69	0.44–6.58			
Lung (162)	22	28	0.98	0.56–1.71	49	1.37	0.83–2.27			
Melanoma (172)	3	6	1.74	0.43–7.01	9	2.65	0.71–9.92			
Breast (174)	22	31	1.23	0.71–2.13	23	0.95	0.53–1.72			
Female genital tract (179–183)	11	24	1.81	0.88–3.69	17	1.36	0.63–2.91			
Prostate (185)	10	9	0.82	0.33–2.01	26	1.92	0.91–4.02			
Bladder and kidney (188–189)	19	35	1.50	0.86–2.63	22	0.81	0.44–1.50			
Lymphohaematopoietic system (200–208)	11	18	1.40	0.66–2.97	17	1.29	0.60–2.76			

ICD, International Classification of Diseases.

RRs were adjusted for country, gender, age, time since test, job exposure and smoking habit.

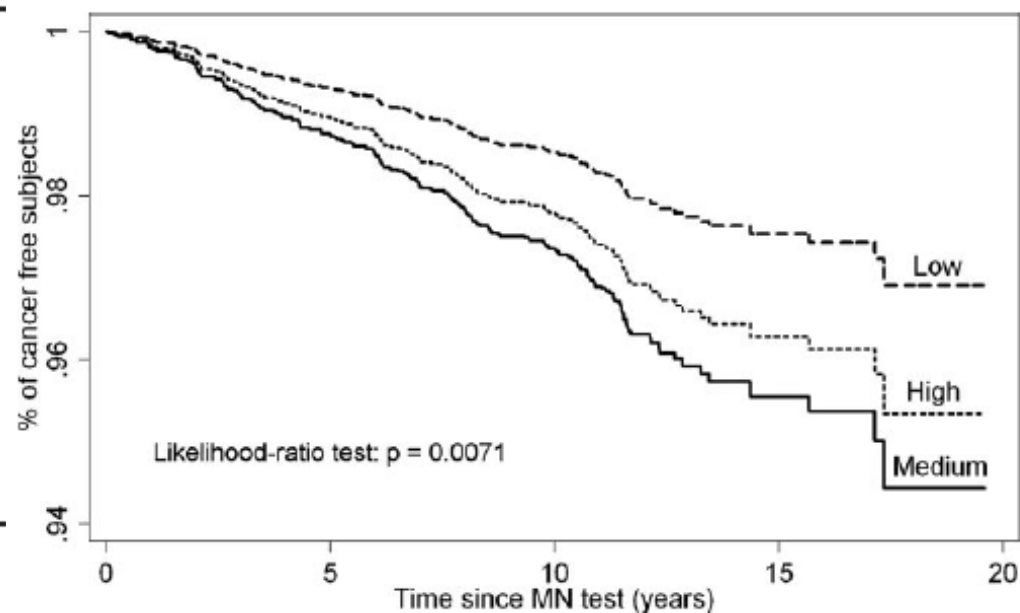
^aReference category.

An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans

Table II. Relative risk of cancer incidence by MN frequency, gender, occupational exposure to carcinogens and smoking status

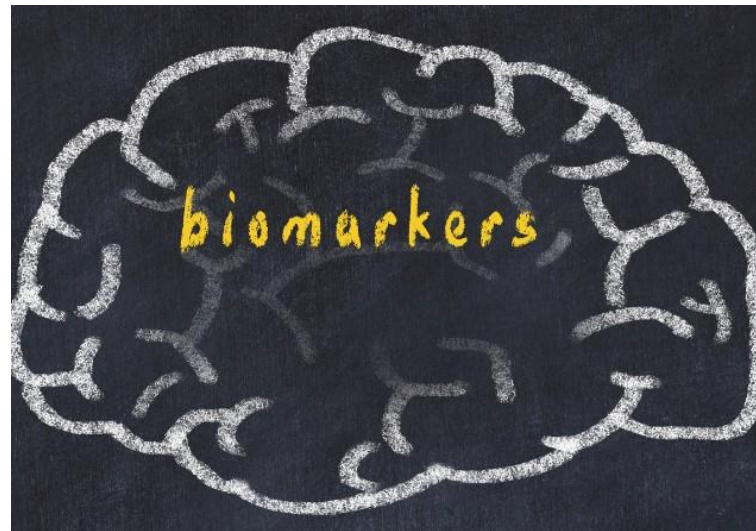
Covariate	Cases	Subjects	Person-years	RR ^a	95% CI	P-value
MN frequency						
Low*	51	1307	12 415	1	—	
Medium	91	1426	13 014	1.84 [#]	1.28–2.66	0.001
High	77	1430	12 935	1.53 [#]	1.04–2.25	0.03
Gender						
Female*	86	1814	15 062	1	—	
Male	133	2349	23 302	1.46	1.02–2.10	0.04
Occupational exposure ^b						
No*	25	1169	10 813	1	—	
Yes	194	2953	27 274	1.41	0.85–2.35	0.19
Smoking status ^c						
Never*	94	2272	20 849	1	—	
Former	30	247	2246	1.23	0.76–2.01	0.40
Current	85	1575	14 786	1.49	1.06–2.11	0.02

RR estimated by negative binomial regression analysis (4163 subjects).
 All cancers: ICD IX 140–208.
^aRR, relative risk adjusted also by age (5 years unit), country, time since MN test; CI, confidence interval.
^b41 subjects with missing data.
^c69 subjects with missing data.
 *Reference group.
[#]Corresponding unadjusted RR (95% CI) for medium and high tertiles are 1.67 (1.20–2.34) and 1.47 (1.04–2.07), respectively.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os biomarcadores são ferramentas de extrema utilidade na área de diagnóstico, prognóstico e terapêutica (predição).
- Valor preditivo dos biomarcadores de efeito.
- Integração de biomarcadores citogenéticos (efeito) em programas de prevenção.



III Congresso Nacional Ciências Biomédicas Laboratoriais



BIOMARCADORES DE EFEITO E AS SUAS POTENCIALIDADES NO DIAGNÓSTICO

Carina Ladeira

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

carina.ladeira@estesi.ipl.pt

26 de Outubro 2019

