

Investigarea prin *aCGH* a unei tumori mamare

Autori: Bogdan Popescu, Daniela Șerban, Cătălina Ștefan, Scărlătescu Alina
Coordonator științific: Șef de lucrări dr. Eugen Radu,
Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București

INTRODUCERE

Țesutul tumoral este o entitate biologică heterogenă, ce prezintă un mozaicism genetic complex. Geneza și progresia țesutului tumoral pot fi corelate cu anomalii genomice, în literatură raportându-se acumulări de mutații în evoluția leziunii. Hibridizarea genomică comparativă pe microarray (Microarray Comparative Genomic Hybridization - *aCGH*) oferă față de analiza citogenetică clasică o rezoluție semnificativ mai bună, putând evidenția microdeleții sau microadiții de material genetic. ADN-ul de cercetat este analizat comparativ cu un ADN de referință, rezultatul obținut fiind o hartă a diferențelor relative de material cromozomial dintre cele probe.

MATERIALE ȘI METODE

ADN a fost extras din țesutul tumoral obținut în urma unei operații de mastectomie totală prin digestia enzimatică a probei urmată de adsorbția pe fază solidă (QIAmp DNA Mini, Qiagen). ADN-ul extras a fost evaluat prin spectrometrie și electroforeză în gel de agaroză. 0,5 μg ADN genomic (amestec echimolecular de ADN tumoral și ADN de referință - Promega® kit) a fost marcat fluorescent prin extensia unor primeri aleatori marcați cu fluorocromi Cy3 și Cy5, urmând să hibridizeze pe un microarray cu 135.000 de sonde oligonucleotidice (Roche NimbleGen human 12x135 CGH). Achiziția datelor s-a realizat cu un sistem NimbleGen MS200, iar pentru normalizarea și prelucrarea lor s-au utilizat programele software Roche NimbleScan și Biodiscovery Nexus Copy Number 6.

ANALIZA DE DATE

Pentru a putea raporta o anomalie identificată în genomul cercetat ca având semnificație biologică, s-a urmat un algoritm de raportare urmând recomandările din literatura de specialitate. S-au stabilit nivele de *cut-off* peste și sub care se pot raporta adțiile respectiv delețiile, s-au fixat dimensiuni (în kb) minime pentru rezultate semnificative, limitele de variație ale medianelor probelor investigate, suprapunerea peste zone cu variabilitate cunoscută mare și peste zone care codifică proteine cunoscute implicate în patologia tumorală (Online Mendelian Inheritance in Men).

REZULTATE

Conform acestor criterii, s-au raportat 17 anomalii genomice (12 adii și 5 deleții) cu lungimi cuprinse între 52.698 și 1.993.898 perechi de baze, implicând mai multe segmente cromozomiale: regiuni peritelomerică și pericentromerică (recunoscute ca fiind vulnerabile în cazul absenței mecanismelor celulare de reparare genomică) și regiuni cu un conținut ridicat de gene codante (1p36.32, 16p11, 16q22, 17q21, 20p13). Datele obținute pot fi considerate semnificative din punct de vedere statistic, obținându-se *p value* cuprins în intervalul $1,53 \times 10^{-2}$: $7,27 \times 10^{-186}$. Unele dintre variațiile cantitative de material genetic identificate au fost raportate anterior în literatură ca zone de instabilitate asociate procesului de tumorigeneză mamară. Este, de pildă, cazul unei adii în regiunea genei **RASA4**, o protooncogenă activatoare a proteinei P21, implicată în controlul proliferării celulare maligne.

CONCLUZII

În concluzie, tehnica aplicată s-a dovedit suficient de sensibilă pentru a supinde aberații genetice cantitative discrete, situate sub limita de detecție a cariotipării clasice. Tocmai datorită acestei sensibilități, este necesară stabilirea judicioasă a parametrilor algoritmului de analiză, cu scopul evitării rezultatelor fals pozitive. Deși este în continuare subiect de studiu, identificarea unor anomalii cromozomiale ce includ gene implicate în procesul malign poate oferi informații cu valoare prognostică în privința evoluției bolii și răspunsului la terapie.