



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102013022347-6 A2

(22) Data do Depósito: 02/09/2013

(43) Data da Publicação: 24/05/2016

(RPI 2368)



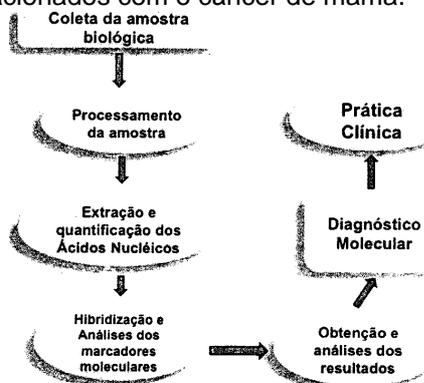
(54) **Título:** PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NEOPLASIAS DE MAMA

(51) **Int. Cl.:** C12Q 1/68; C07H 21/00

(73) **Titular(es):** JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO

(72) **Inventor(es):** JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO, ROBERTA LUCIANA DO NASCIMENTO GODONE, CARLOS HENRIQUE MADEIROS CASTELLETTI, DANYELLY BRUNESKA GONDIM MARTINS

(57) **Resumo:** PAINEL GENETICO NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NEOPLASIAS DE MAMA A presente invenção refere-se a um painel de marcadores genéticos que possuem potencial de diagnóstico, prognóstico e/ou preditor de neoplasias de mama. A invenção consiste na identificação da variação da expressão de genes relacionados com o câncer de mama.



PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NEOPLASIAS DE MAMA

RELATÓRIO DESCRITIVO

5 Campo da Invenção

A presente invenção refere-se ao campo métodos e dispositivos baseados em painel genético para a identificação de marcadores moleculares para ao câncer de mama. A presente invenção engloba também a previsão da progressão do câncer de mama, por exemplo, se o paciente é ou não susceptível ao aparecimento de metástases.

Antecedentes da Invenção

O câncer de mama representa uma das principais causas de morte em mulheres do mundo inteiro, inclusive brasileiras. Globalmente, cerca de 1,38 milhões de mulheres são diagnosticadas com câncer de mama e 458.503 morrem da doença a cada ano, perdendo apenas para o câncer de pulmão. Um total de 70% das mortes por câncer de mama ocorrem em mulheres de países de baixa renda e média renda. Embora a idade média dos pacientes com câncer de mama é 65 anos, esta doença pode afetar mulheres de todas as idades. O câncer de mama, no entanto, não se restringe à população feminina, pois cerca de 1% de todos os casos diagnosticados são em homens. Na América Latina cerca de 115.000 novos casos da doença a cada ano, e para o ano de 2012/2013, o INCA estima mais de 52.000 novos casos de câncer de mama no Brasil.

A melhoria nos métodos de detecção, rastreamento em massa, e os avanços no tratamento ao longo da última década têm aumentado significativamente as perspectivas para as mulheres diagnosticadas com câncer de mama. Hoje, aproximadamente 80% dos casos de câncer de mama são diagnosticados nos estágios iniciais da doença, e como resultado cerca de 85% das pacientes com câncer de mama estão vivas, pelo menos cinco anos após o diagnóstico da doença.

Apesar destes avanços, aproximadamente 20% das mulheres diagnosticadas com câncer de mama em estágio inicial têm uma má evolução e conseqüentemente podem vir a sofrer com a recorrência da doença, metástases ou morte. Diante disso, faz-se necessária à implementação de métodos diagnósticos de qualidade e eficazes que
5 atendam as necessidades de cada paciente individualmente.

A maioria dos tumores de mama, assim como os tumores em geral, são resultantes de alterações genéticas e epigenéticas que se acumulam nas células e que podem mudar a morfologia e a função das mesmas. Desta forma, os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de mama relacionam-se com idade avançada,
10 características reprodutivas, história familiar e pessoal, hábitos de vida e influências ambientais. Além destes, outros fatores influenciam no surgimento do câncer de mama tais como: desregulação dos receptores de estrógeno (que permitem o aumento da proliferação das células epiteliais mamárias), complicações na checagem do ciclo celular, danos nas moléculas envolvidas nos fatores de crescimento,
15 amplificação de oncogenes e inativação de genes supressores de tumor, erros na via de apoptose e descontrole da senescência celular ocasionando nas células função de reprodução sem restrições, resultando assim na invasão de tecidos locais e, por conseguinte, invasão de tecidos vizinhos.

Alguns países em desenvolvimento têm apresentado um aumento na incidência
20 do câncer de mama acompanhado da mortalidade. Estes dados têm sido atribuídos, principalmente, a modelos de diagnósticos e terapêuticos pouco eficazes. Uma questão que afeta potencialmente os resultados clínicos é o intervalo de tempo entre a suspeita inicial de câncer e o diagnóstico, e subseqüentemente, o tempo de tratamento. No caso do câncer de mama, a detecção precoce é um aspecto
25 importante para melhorar os resultados terapêuticos desta doença.

As análises de marcadores moleculares vêm sendo descritas como uma forma de classificar o câncer de mama a nível clínico, identificando assim a grande diversidade de subtipos de tumores baseados nos perfis de expressão gênica e influenciando na

conduta e tomada de decisões médicas mais eficientes no combate ao câncer de mama.

A patente **WO 2009158143 A1** intitulada “**Gene expression profiles to predict breast cancer outcomes**” de 30 de dezembro de 2009, descreve um método de
5 classificação e avaliação de prognóstico em indivíduos com câncer de mama em diferentes subtipos. O modelo de previsão é baseado no perfil de expressão gênica de alguns genes como: ACTR3B, ANLN, BCL2, CDC20, CDC6, EDRF, ERBB2, EXO1 dentre outros citados na patente. Os métodos da invenção compreendem ainda meios de avaliar o perfil da expressão de genes incluindo ensaios com microarranjo e PCR em
10 tempo real. Entretanto o invento em destaque utiliza genes que já são descritos em outros painéis genéticos que já são utilizados na prática clínica.

A patente **WO 2008132167 A2** intitulada “**Diagnostic, prognostic and/or predictive indicators of breast cancer**” de 06 de novembro de 2008, descreve a
15 invenção que refere-se a um novo painel de mRNAs que possuem potencial como indicadores de câncer de mama que engloba diagnóstico, prognóstico e / ou predição, além deste painel também possui potencial para novos alvos terapêuticos. Porém este método apresenta a utilização de mRNA na constituição de seu painel e alguns dos genes utilizados como referência para a obtenção dos mRNA estão relacionados a outras doenças além do câncer de mama propriamente dito.

20 A patente **WO 2011103236 A2** intitulada “**Personalized tumor biomarkers**” de 25 de agosto de 2011, descreve um método chamado *Personalized analysis of rearranged ends (PARE)* que pode identificar translocações em tumores sólidos e analisa além de tumores de mama, os tumores colon-retais. O método utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) com iniciadores que abrangem os pontos de parada e
25 são capazes de detectar moléculas de DNA mutantes. Contudo, o método utiliza marcadores não só para câncer de mama, mas também para câncer colon-retal, sendo desta forma classificado como desenvolvimento de biomarcadores personalizado para gestão clínica em pacientes com câncer em geral.

Na patente **WO 2011109637 A1** intitulada “**Methods for classifying and treating breast cancers**” de 09 de setembro de 2011, descreve a identificação de seis subtipos moleculares de câncer da mama e terapias otimizadas que são eficazes para o tratamento de cada um destes subtipos, avaliando níveis de expressão gênica através da técnica de PCR em tempo real e microarranjo. Entretanto, o método também utiliza marcadores presentes em outros painéis genéticos já descritos.

Nenhuma das patentes citadas acima possui semelhança com o painel genético proposto para diagnóstico, prognóstico e/ou predição do câncer de mama. Os genes propostos não estão descritos em outras patentes para o diagnóstico molecular do câncer de mama.

Descrição da Invenção

A presente invenção descreve um método baseado em painel genético para a identificação de marcadores moleculares relacionados a previsão da progressão do câncer de mama. O método visa à identificação do câncer de mama enfocando risco, recorrência, progressão e/ou metástase.

O método de busca para a elaboração do painel compreendeu a seleção da expressão de genes potenciais relacionados ao risco, progressão, recorrência e/ou metástase no câncer de mama (Figura 1).

O painel consistirá em um grupo de 27 genes: AKT1, AKT2, ABCB1, AURKA, ABCD3, ARID1B, BAX, CASP8, DCD, CDH1, ESR1, FOXA1, GATA3, GRB7, GSTP1, HS3ST2, KRT19, MAD2L1, MKI67, MAP3K1, MUC1, NCOR1, PRKCDBP, RB1, SNAI1, SMYD4 e ZNF217, que serão analisados quanto ao aumento ou diminuição dos níveis de expressão gênica.

A tabela 1 descreve o painel genético da presente invenção com as características necessárias para a avaliação e obtenção dos resultados, trazendo informações e particularidades de cada gene.

Tabela 1

GENES	NOME DO GENE	PAPEL DOS BIOMARCADORES	TIPO DE TUMOR (HISTOLOGIA)	REGULAÇÃO
AKT1	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1</i>	Predição/Prognóstico	Carcinoma Ductal	<i>Up-regulated</i>
AKT2	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2</i>	Predição/Prognóstico	ND*	<i>Up-regulated</i>
ABCB1	<i>ATP-binding cassette</i>	Predição/Prognóstico	Carcinoma Ductal	<i>Down-regulated</i>
ARID1B	<i>AT rich interactive domain 1B</i>	Prognóstico	Carcinoma Ductal	<i>Down-regulated</i>
AURKA	<i>Aurora Kinase k</i>	Prognóstico	Carcinoma HER-2 Positivo	<i>Up-regulated</i>
ABCD3	<i>ATP-binding cassette-member 3</i>	Prognóstico	Carcinoma HER-2 Positivo	<i>Up-regulated</i>
BAX	<i>BCL2-associated X protein</i>	Prognóstico	ND*	<i>Up-regulated</i>
CASP8	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A</i>	Prognóstico	Carcinoma Basal Triplo-negativo	<i>Up-regulated</i>
CDH1	<i>Cadherin 1, type 1, E-cadherin</i>	Prognóstico	Carcinoma Ductal/Carcinoma Lobular	<i>Up-regulated</i>
DCD	<i>dermcidin</i>	Prognóstico	Carcinoma Invasivo	<i>Up-regulated</i>
ESR1	<i>Estrogen receptor 1</i>	Prognóstico	Carcinoma ER/PR positivo	<i>Down-regulated</i>
FOXA1	<i>Forkhead box A1</i>	Diagnóstico/Prognóstico	Carcinoma Basal Triplo-negativo	<i>Up-regulated</i>
GATA3	<i>GATA binding protein 3</i>	Prognóstico	Carcinoma Ductal/Carcinoma Luminal	<i>Up-regulated</i>
GRB7	<i>Growth factor receptor-bound protein 7</i>	Predição/Prognóstico	Carcinoma HER-2 Positivo	<i>Up-regulated</i>
GSTP1	<i>Glutathione S-transferase pi 1</i>	Prognóstico	ND*	<i>Down-regulated</i>
HS3ST2	<i>Heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 2</i>	Prognóstico	ND*	<i>Down-regulated</i>
KRT19	<i>Keratin 19</i>	Diagnóstico/Predição	ND*	<i>Up-regulated</i>
MAD2L1	<i>MAD2 mitotic arrest deficient-like 1</i>	Prognóstico	Carcinoma Ductal/Carcinoma HER-2 Positivo	<i>Up-regulated</i>
MKI67	<i>Antigen identified by monoclonal antibody Ki-67</i>	Prognóstico	Carcinoma Ductal/Carcinoma Basal Triplo-negativo	<i>Up-regulated</i>
MAP3K1	<i>Mitogen-activated protein kinase 1</i>	Predição	ND*	<i>Up-regulated</i>
MUC1	<i>Mucin 1</i>	Diagnóstico	Carcinoma ER/PR Positivo	<i>Up-regulated</i>
NCOR1	<i>Nuclear receptor corepressor 1</i>	Prognóstico	Carcinoma Lobular/Carcinoma Basal Triplo-negativo/Carcinoma a HER-2 Positivo	<i>Down-regulated</i>

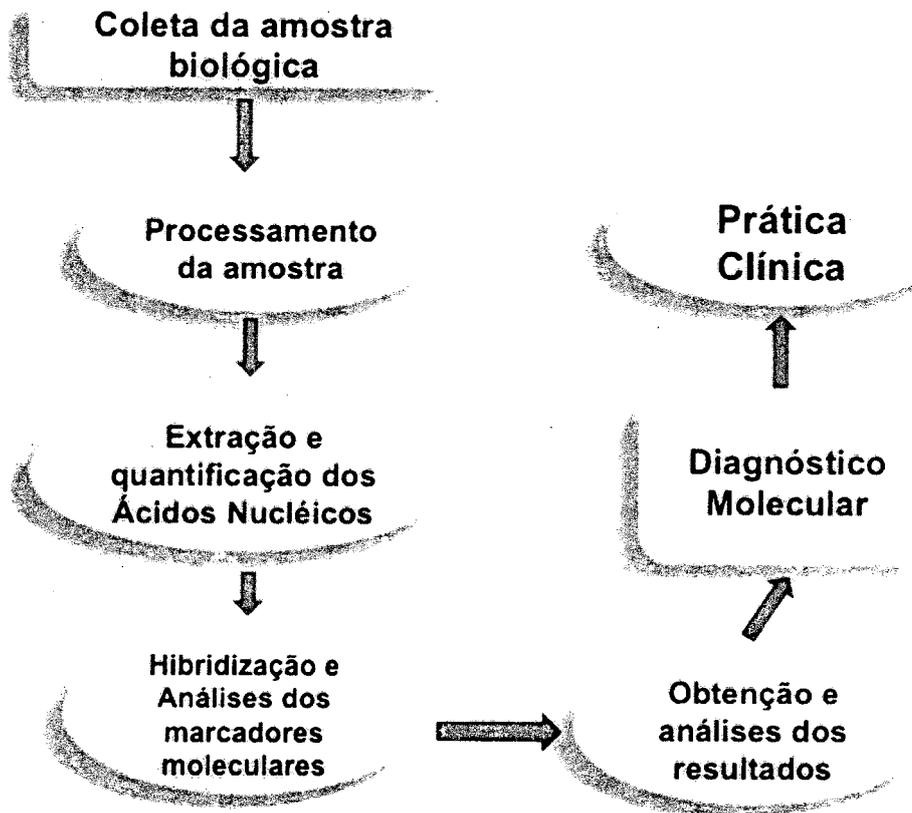
PRKCDBP	<i>Protein kinase C</i>	Prognóstico	ND*	<i>Down-regulated</i>
RB1	<i>Retinoblastoma 1</i>	Predição	Carcinoma Ductal, Carcinoma Basal Triplo-negativo/Carcinoma Luminal	<i>Down-regulated</i>
SNAI1	<i>Snail family zinc finger 1</i>	Prognóstico	ND*	<i>Up-regulated</i>
SMYD4	<i>SET and MYND domain containing 4</i>	Diagnóstico	Carcinoma Basal Triplo-negativo	<i>Down-regulated</i>
ZNF217	<i>Zinc finger protein 217</i>	Prognóstico	Carcinoma ER/PR Positivo/Carcinoma Basal Triplo-negativo	<i>Up-regulated</i>

ND= Não Demonstrado; PR= Receptor de Progesterona; ER= Receptor de Estrogênio.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo que prevê o diagnóstico, prognóstico e predição de neoplasias de mama, a partir da detecção da expressão de um ou mais biomarcadores selecionados em um grupo consistindo dos genes AKT1, AKT2, ABCB1, AURKA, ABCD3, ARID1B, BAX, CASP8, CDH1, DCD, ESR1, FOXA1, GATA3, GRB7, GSTP1, HS3ST2, KRT19, MAD2L1, MKI67, MAP3K1, MUC1, NCOR1, PRKCDBP, RB1, SNAI1, SMYD4 e ZNF217 em que um aumento ou diminuição da expressão gênica de um ou mais dos biomarcadores, em comparação com um padrão, indicará uma recorrência, progressão ou metástase da doença.
5
2. A análise de amostras biológicas a partir do método da reivindicação 1.
3. Processo na forma de detecção dos padrões dos níveis de expressão dos potenciais biomarcadores descritos no método de reivindicação 1.
4. Processo na forma de detecção em pacientes com câncer de mama no que diz respeito ao diagnóstico consistindo pela seleção dos biomarcadores FOXA1, GBB7, KRT19, SMYD4 e MUC1 através do método da reivindicação 1.
15
5. Processo na forma de detecção em pacientes com câncer de mama no que diz respeito a prognóstico utilizando os biomarcadores selecionados a partir do grupo que consiste AKT1, AKT2, ABCB1, ARID1B, CASP8, CDH1, DCD, ESR1, FOXA1, GATA3, GRB7, GSTP1, HS3ST2, MAD2L1, MKI67, NCOR1, PRKCDBP, SNAI1, ZNF217, AURKA, ABCD3 e BAX através do método da reivindicação 1.
20
6. Processo na forma de detecção em pacientes com câncer de mama no que diz respeito a predição do câncer de mama utilizando os biomarcadores selecionados a partir do grupo que consiste AKT2, ABCB1, MAP3K1 e RB1 através do método da reivindicação 1.
25

Figura 1.



PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E PREDIÇÃO DE NEOPLASIAS DE
MAMA

RESUMO

A presente invenção refere-se a um painel de marcadores genéticos que possuem potencial de diagnóstico, prognóstico e/ou preditor de neoplasias de mama. A invenção consiste na identificação da variação da expressão de genes relacionados com o câncer de mama.