

BREVES CONSIDERAÇÕES SOBRE BIOLOGIA MOLECULAR DO CANCRO: CONCEITO DE TERAPÊUTICA DIRIGIDA

M. Jorge Freitas Almeida

Enfermeiro Responsável, Serviço de Oncologia Médica, Piso 3
Instituto Português de Oncologia, Porto
Mestrado em Bioética

Escrever sobre biologia molecular do cancro é uma tarefa difícil uma vez que a informação está constantemente a ser actualizada pela descoberta de novos dados científicos, de novas formas de entender as reacções celulares. Actualmente, os profissionais têm necessidade de saber mais sobre biologia celular, importante na compreensão da natureza da doença oncológica. Como enfermeiro que trabalha em oncologia, sinto que é importante conhecer de uma forma global como se desenvolve o cancro, no sentido de ajudar a responder às perguntas dos doentes. As terapêuticas dirigidas foram especificamente “desenhadas” para interromper ou impedir processos biológicos importantes que têm lugar nas células neoplásicas. Idealmente deveria tratar-se de um processo exclusivo da célula doente mas, na prática, isto não é de todo possível. Todas as células necessitam de sinais que lhes indiquem que devem crescer, mas haverá um momento em que falha o controlo desses sinais e a partir daí começam a proliferar, sem regulação.

I. CICLO CELULAR: Considerações breves

Tal como define a teoria celular (todas as células se formam a partir de células pré-existentes), o crescimento e o desenvolvimento dos organismos vivos depende do crescimento e da multiplicação das suas células. Quando uma célula se divide, a informação genética contida no seu ADN deve duplicar-se de maneira precisa e, assim, as cópias transmitem-se a cada célula filha. Este processo de divisão recebe o nome de fusão binária. O ADN está organizado em mais de um cromos-

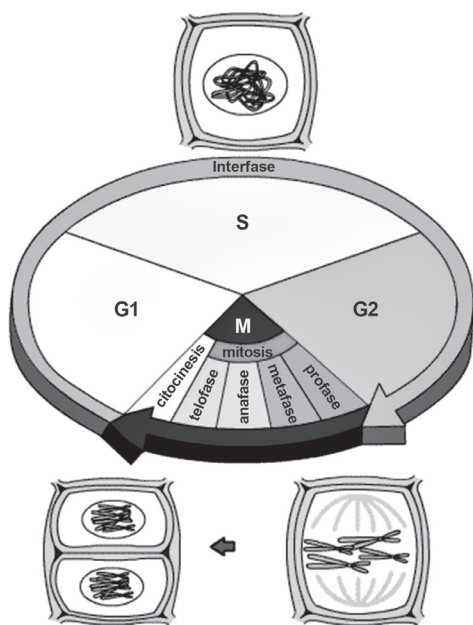
soma, sendo o processo de divisão celular mais complexo. Esta divisão celular passa por quatro etapas:

- crescimento
- duplicação do ADN
- separação do ADN “original” da sua “réplica”
- separação das células “filhas”, finalizando a divisão celular.

Assim, o ciclo celular é a sequência cíclica de processos na vida de uma célula eucariótica, que conserva a capacidade de se dividir, e consiste na *interfase*, *mitose* e *citocinese*. No general, todas as células passam, no percurso do seu ciclo celular, por dois períodos diferentes:

- O período da *interfase*, fase durante a qual a célula cresce, replica o seu ADN e se prepara para a divisão seguinte;
- O período de *divisão* ou a *fase M*, sendo o estado mais dramático da célula, composto por dois momentos: a *mitose* ou divisão do núcleo (onde se separam os cromossomas filhos, replicados anteriormente) e a *citocinese* ou divisão do citoplasma em duas células filhas.

A divisão celular mitótica produz duas células filhas, geneticamente idênticas à célula original.



A *interfase* subdivide-se em três períodos: G1, S e G2. Na fase G1 (G de *gap*, intervalo), ocorrem diferentes actividades na célula: secreção, condução, endocitose, etc. Começando a partir da citocinese da divisão anterior, a célula filha resulta mais pequena e possui um baixo conteúdo de ATP, resultante do gasto ocorrido no ciclo anterior, pelo que neste período se produz a acumulação de ATP necessário ao incremento do tamanho celular. É o período que mais variação de tempo apresenta, podendo durar dias, meses ou anos. As células que não se dividem novamente (como as nervosas ou as do músculo esquelético) passam toda a sua vida neste período, que nestes casos, se denomina G0.

A *fase S*, fase de síntese ou replicação de ADN, começa quando a célula adquire o tamanho suficiente e o ATP necessário. Dado que o ADN leva a informação genética da célula, antes da mitose devem gerar-se duas moléculas idênticas para serem repartidas entre as duas células filhas. O ADN é uma dupla hélice que se abre e cada cadeia é usada como molde para a produção de uma nova cadeia, ficando unida à original, usada como molde. Por essa razão, a replicação do ADN denomina-se *semi-conservativa*. Estes ADNs novos ficam unidos pelo centrómero durante a mitose.

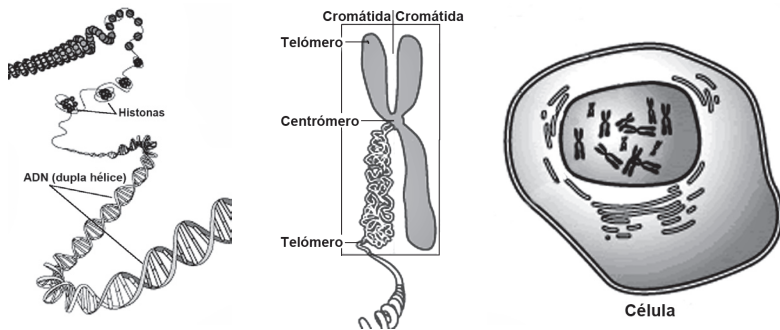
A *fase G2* é o tempo que decorre entre a duplicação do ADN e o início da mitose. Dado que o processo de síntese consome uma grande quantidade de energia, a célula entra novamente num processo de crescimento e aquisição de ATP. A energia adquirida durante a fase G2 utiliza-se para o processo de mitose.

Factores ambientais, tais como variações da temperatura e do pH e a diminuição dos níveis de nutrientes, levam à diminuição da velocidade de divisão celular. Quando as células detêm a sua divisão, geralmente agem numa fase tardia da G1, denominado o *ponto R* (Restrição). Esta característica é importante quando analisamos o comportamento do organismo humano perante um processo de neoplasia instalada.

Por outro lado, no momento da replicação do ADN também existem mecanismos para preservar a sua integridade, não obstante, em determinadas ocasiões aqueles falharem e se sucederem erros. O genoma pode alterar-se por um conjunto de mecanismos, sendo os principais as agressões do meio ambiente que podem actuar sobre os nucleótidos e bloquear a replicação do ADN, a adição de grupos químicos às bases por agentes alquilantes e/ou a separação espontânea das purinas da coluna da dupla hélice. Estes erros são corrigidos por um sistema de reparação de nucleótidos, já bem estudado na bactéria *Escherichia coli*.

ADN e Cromossomas

A função essencial do núcleo é proporcionar à célula a informação contida na molécula de ADN. A molécula de ADN encontra-se no núcleo associada a proteínas denominadas *histonas* e outras proteínas não histónicas, numa estrutura filamentososa, denominada *cromatina*.



Esta “compactação” permite que a grande molécula de ADN permaneça no núcleo celular. Durante a *interfase*, a cromatina está dispersa ou não compactada. Esta etapa de dispersão máxima é a que permite ao ADN estar disponível para efectuar as suas funções de replicação e de transcrição.

Durante a divisão celular, o núcleo sofre trocas muito importantes, permitindo que a cromatina possa distribuir-se entre as duas células filhas. A cromatina condensada forma corpos compactos, denominados cromossomas, que são complexas associações de ADN e proteínas. Só durante a fase da mitose do ciclo celular, o ADN apresenta-se condensado, formando cromossomas. No resto do ciclo celular (*interfase*), a cromatina está dispersa.

À excepção dos gâmetas, cada célula do corpo, ou *somática*, de um indivíduo, possui um número idêntico de cromossomas (46 no ser humano), os quais se apresentam como pares. Cada membro do par provém de um dos pais. Cada membro do par denomina-se *homólogo*. Assim, o ser humano tem 23 pares de homólogos. A continuidade do número cromossómico de uma espécie é mantida por uma classe de divisão celular, denominada por *mitose*.

Crescimento celular

O crescimento celular está controlado por factores de crescimento. Existe uma grande quantidade de factores de crescimento, mas todos actuam de forma similar. O factor combina-se com um receptor da superfície da célula, atravessando a sua membrana, possuindo um domínio externo (fora da célula) e um domínio interno (dentro dela). O receptor transporta a mensagem através da membrana utilizando as proteínas de relevo

(a via de tradução do sinal), levando a mensagem até à parte mais interior da célula. A mensagem chega assim ao núcleo celular.

No núcleo, executa-se a mensagem, responsável pela ordem de crescimento, e entram em jogo os factores de transcrição, provocando um aumento do crescimento e da divisão celular.

As proteínas celulares actuam como parte da via de tradução do sinal e asseguram, através de um sinal para “parar” ou para “crescer”, em cada momento, o número correcto de células.

Existem aproximadamente 20 receptores do factor de crescimento, onde se incluem os receptores do *factor de crescimento epidérmico* (EGF), do *factor de crescimento endotelial epidérmico* (VEGF), e do *factor de crescimento derivado de plaquetas* (PDGF). Estes receptores contam com uma estrutura comum: um domínio externo, um domínio transmembranar e um domínio interno, classificado como uma tirocinase.

Todos estes receptores funcionam basicamente de forma similar. Quando existe um ligando que se une ao domínio externo do receptor, a mensagem transmite-se ao interior da célula. A sinalização em sentido descendente produz-se através das vias de tradução do sinal, transportando a mensagem até ao núcleo celular, onde se processa a transcrição.

Normalmente existe mais de uma via de sinalização em cada receptor. Para se interromper essas vias, de forma eficaz, é necessário identificar qual é a via utilizada pelo receptor. Estas vias de tradução são complexas e um dos principais objectivos da biologia molecular consiste em traçar um mapa das mesmas. Estas vias são tão complexas como o sistema de metro de Londres, onde existem várias formas de ir de A para B, implicam “transbordos” ou, como denominamos na biologia molecular, de proteínas de controlo de sinal.

Pouco se sabe ainda sobre a forma como milhares de proteínas de sinalização celular do corpo estão “tabeladas” para se comunicarem entre si, quantas vias distintas existem, quantos elementos existem no sistema de sinalização, se os sinais se movem sempre da mesma forma, na mesma via, ou se utilizam “comunicações

cruzadas” para saltar uma via bloqueada e transmitir a sua mensagem por outra via.

No cancro, como pode existir mais de uma via de tradução do sinal afectada, pode ser necessário uma combinação de distintas terapias dirigidas, para controlar um tipo concreto de tumor. Embora algumas terapias dirigidas sozinhas impeçam que as células se dividam, pode não ser suficiente para as destruir. Nestes casos, o mais adequado pode ser combinar uma terapia dirigida com um fármaco citotóxico convencional com o objectivo de erradicar as células tumorais.

II. PROPRIEDADES DOS TUMORES MALIGNOS

O cancro não é o resultado de uma única alteração na célula. Uma célula normal tem de sofrer várias alterações para se converter em maligna. O desenvolvimento do tumor começa quando uma célula sofre uma mutação genética, aumentando a tendência para proliferar.

Nas primeiras fases do crescimento do tumor, o cancro *in situ* permanece restrito à membrana basal (a membrana basal é uma capa especial de tecido de interligação do epitélio com o tecido conjuntivo subjacente). Recordar que a grande maioria dos tumores sólidos têm origem epitelial. Nesta fase, a cirurgia é uma opção viável e com maior êxito. Pelo contrário, uma ou mais células tumorais que sofrem mutações e que permite propagar-se ou evoluir para metástases, considera-se um tumor invasivo.

Em circunstâncias normais, as células não podem crescer nem formar grandes massas incontroladas porque diversos mecanismos reguladores o impedem. Inversamente, a célula cancerígena desenvolve formas de vencer esses mecanismos, adquirindo propriedades invasivas, sendo capaz de:

- Iludir o envelhecimento;
- Resistir à apoptose;
- Estimular a angiogénese;
- Propagar-se mediante metástases.

O envelhecimento é o processo natural de morte celular. As células humanas têm uma vida finita e normalmente experimentam 50 a 60 divisões antes de morrer. O “contador” dessas divisões é o telómero. Tra-

ta-se de um segmento protector de ADN, situado nos extremos dos cromossomas, que se reduz cada vez que a célula se divide. Quando o telómero se reduz além do limite, diz-se que a célula está envelhecida. Esta perde a capacidade de se replicar, envelhece gradualmente e no final, morre. Por outro lado, existe uma enzima, a telomerase, cuja actividade é substituir os segmentos perdidos do telómero, que pode fazer com que a célula se consiga dividir, mesmo depois das 60 divisões.

Normalmente, as células mutadas não sobrevivem porque existe um mecanismo que provoca a sua morte – a apoptose ou morte celular programada. Trata-se de um processo activo submetido ao controlo genético, fazendo parte do funcionamento normal do corpo. A apoptose elimina as células que não são necessárias (por exemplo, no sistema imunitário, quando termina a resposta imunitária) assim como aquelas que foram infectadas por vírus ou alteradas pelo efeito da quimioterapia ou radioterapia. Diariamente, aproximadamente 10.000 milhões de células experimentam, no corpo humano, a apoptose. Esta apoptose é regulada por genes supressores dos tumores. As células cancerígenas iludem a apoptose mediante a inactivação de p53 (o “guarda do genoma”) ou mediante a produção de quantidades excessivas de uma proteína, chamada Bcl-2, cuja função é bloquear o suicídio celular⁽¹⁾.

O estímulo para a angiogénese é a libertação de factores de angiogénese tumorais (angio = relativo aos vasos sanguíneos; génese = origem). Entre estes factores, incluem-se o *factor de crescimento endotelial vascular* (VEGF) e o *factor de crescimento transformador* (TGF)⁽²⁾. Estes genes libertam-se do tumor e actuam sobre os capilares circundantes, provocando um crescimento em direcção ao interior do tumor. O estímulo para a libertação destes factores é a anoxia, de forma que quando o tumor alcança o tamanho que o impede de obter suficiente oxigénio, segrega factores angiogénicos tumorais. Os vasos em crescimento também segregam outros factores, tais como o PDGF, responsável pela estimulação do crescimento e suporte dos vasos sanguíneos. Os

[1] Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ*. 2001;322(7301):1536-8.

[2] Hart IR. Cellular and Molecular Biology of Cancer. In: Franks LM, Teich NM (Eds). *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*, 3rd Edition, Chap. 2; Oxford: Oxford University Press, 1997.

microvasos dos tumores são de estrutura mais tortuosa proporcionando o extravasamento de líquido intersticial, elevando a pressão. Pensa-se que uma pressão de líquido intersticial elevada impede a acção dos agentes quimioterapêuticos junto do tumor⁽³⁾. A maioria dos estudos publicados demonstram a existência de uma correlação entre o número de microvasos e o prognóstico dos tumores sólidos⁽⁴⁾.

Genes e desenvolvimento do cancro

Os últimos 20 anos foram marcados por um importante progresso no conhecimento da patogénese molecular do cancro. Hoje em dia, esta patologia considera-se como uma desordem genética clonal, na qual a acumulação de mutações estratégicas nos genes chave da regulação do crescimento conduz à transformação maligna das células. Os oncogenes foram as primeiras estruturas identificadas e relacionadas com o aparecimento de tumores. Inicialmente identificaram-se os retrovírus como os responsáveis por neoplasias transmissíveis nos animais, mas posteriormente demonstrou-se que os oncogenes são variantes de genes normais das células, responsáveis por estimularem o crescimento celular.

A interacção de múltiplos factores reguladores decide como se comporta a célula em termos de crescimento e de actuação. É muito importante que exista um equilíbrio entre as mensagens que ordenam “crescer” e “não crescer” (ou parar). A interpretação destas mensagens altera-se devido a trocas ou mutações em grupos concretos de genes: os oncogenes, os genes supressores de tumores e os genes reparadores de ADN. Os proto-oncogenes convertem-se em oncogenes (proto-oncogenes activados) porque se produz uma mutação, provocando alterações no funcionamento celular, de tal forma que a mensagem que se transmite da superfície celular ao núcleo se distorce. Assim, o sinal que dá a ordem de “crescer” aumenta. Os oncogenes controlam as proteínas que formam as partes das vias de tradução do sinal. Foram identificados oncogenes que produzem alterações nos factores de crescimento, nos receptores da superfície celular, nos mensageiros citoplasmáticos ou nos factores de transcrição nuclear⁽⁵⁾.

<p>ONCOGENES: Fomentam o crescimento celular</p>	<p>GENES SUPRESSORES DO TUMOR Detêm o crescimento celular No cancro, estes genes sofrem mutação ou se perdem</p>	<p>GENES REPARADORES DO ADN As mutações significam que o ADN não se repara adequadamente</p>
---	---	---

Três tipos de genes desempenham um papel importante no desenvolvimento do cancro:

Os genes supressores de tumores, quando funcionam correctamente, produzem o efeito oposto aos oncogenes e impedem a evolução do cancro (transmitem a mensagem “parar de crescer”). Muitos tumores são o resultado da perda ou do mau funcionamento das proteínas reguladoras, codificadas por estes genes.

Os genes reparadores do ADN (chamados genes de estabilidade) também estão implicados. As mutações destes genes dizem que o ADN defeituoso permanece e passa como mutação das células filhas. Portanto, a expressão do oncogene pode provocar um aumento do crescimento celular devido a:

- Uma excessiva produção de factores de crescimento;
- A produção de um factor de crescimento anormalmente activo;
- Uma excessiva produção do receptor do factor de crescimento;
- Um excesso de actividade dos receptores dos factores de crescimento;
- A persistência de um factor funcional que, em condições normais, deveria ser destruído pela célula.
- Um receptor activo na ausência do seu ligando (construtivamente activo);
- O envio de sinais incorrectos desde o receptor ao núcleo;
- Um aumento da transcrição no núcleo.

III. TERAPIAS DIRIGIDAS

Uma classe de receptores muito estudada são os que ajudam a célula a determinar se deve ou não crescer.

Receptores do factor de crescimento

Em conexão com o ciclo celular, a célula deter-

[3] www.glivec.com

[4] Hasan J, Byers R, Jayson GC. Intra-tumoural microvessel density in human solid tumours. *Br J Cancer*. 2002;86(10):1566-77.

[5] Todd R, Wong DT. Oncogenes. *Anticancer Res*. 1999;19(6A):4729-46.

mina se deve ou não crescer a partir dos factores de crescimento que se encontram no meio circundante. Estes factores, algumas vezes chamados de mutagénicos porque induzem a célula a crescer e a passar à fase de mitose, são polipéptidos de uns 50 a 100 aminoácidos. Quando está presente uma suficiente quantidade, um factor de crescimento (GF de “*growth factor*”) estimulará a célula para que entre num ciclo de crescimento e divisão. Os GF actuam ligando-se aos receptores que se encontram na superfície da membrana. Cada GF liga-se ao domínio extracelular do seu receptor específico e não ao de outros factores de crescimento.

Este domínio de receptor extracelular, pode imaginar-se como uma cavidade que incorpora o GF apropriado, num complemento tipo chave-fechadura, excluindo assim os outros factores. Portanto, o factor de crescimento da epiderme (EGF) só se ligará ao receptor EGF na superfície da célula, mas não, por exemplo, ao receptor do factor de crescimento das plaquetas. No geral, cada tipo de receptor “liga-se” especificamente ao seu próprio “ligando”.

A sequência de eventos é a seguinte:

1. Os factores de crescimento ligam-se ao domínio extracelular de seu receptor.
2. Isto resulta na activação do domínio tirosinacina-se na outra ponta do receptor, que se encontra no lado citoplasmático.
3. A tirosinacina-se activa fosforila uma série de proteínas citoplasmáticas que, por sua vez, resultam activadas ou alteradas funcionalmente, como consequência de terem sido fosforiladas.
4. Logo começam a enviar sinais ao núcleo, que dão como resultado que a célula cresça e se divida.

De notar que o “ligando” do factor de crescimento não necessita de ser fisicamente transportado ao interior para que o sinal seja emitido. Toda a actividade de transmissão transmembranar do sinal ocorre com o ligando no espaço extracelular. Nada disto nos diz porque razão o ligando externo causa a actividade tirosinacina-se no interior. Um grande número de mecanismos pode produzir tal efeito. Um deles depende de dois importantes factores bioquímicos: primeiro, que haja muitas cópias de receptores do factor de crescimento na superfície celular; segundo, que estes receptores submergidos na

membrana plasmática pelo seu domínio hidrófobo possam difundir lateralmente no plano da membrana plasmática. Quando um factor de crescimento se liga a um receptor, estimula a dimerização do mesmo com outro que ocorre sobre ele na membrana plasmática.

A dimerização do domínio extracelular produz como consequência, que os domínios citoplasmáticos dos receptores ficam cercados. A tirosinacina-se é uma molécula receptora que fosforila o domínio cinásico do segundo receptor, ficando cercado desde a dimerização.

Esta fosforilação resulta numa troca do domínio fosforilado, causando a sua activação funcional. Com efeito, os dois domínios cinásicos, uma vez que estão “cara a cara”, fosforilam-se (e portanto activam-se) um ao outro. Uma vez activados, fosforilam proteínas do citoplasma que, por sua vez, passam sinais ao interior da célula.

O nosso conhecimento da biologia molecular do cancro proporciona-nos diversas opções para aproveitar o funcionamento anormal das células neoplásicas, reduzindo o crescimento neoplásico. Entre as terapias dirigidas em desenvolvimento, encontramos:

- Inibidores da angiogénese (para limitar o processo de angiogénese) que procuram cortar o aporte de oxigénio e de nutrientes ao tumor, pelo que as células morrem. Temos:
 - anti-receptor do VEGF
 - angiostatina
 - endostatina
- Inibidores do factor de crescimento (para impedir a actividade do sinal de crescimento), que pretendem reduzir a proliferação e o crescimento celular: anticorpos e os inibidores da tirosinacina-se da molécula pequena;
- Antagonista da apoptose, para incrementar a apoptose e ou deter a resistência à apoptose.
- Vacinas, para estimular a produção de anticorpos.
- Antagonistas hormonais, para estimular ou impedir a actividade hormonal em tumores dependentes de hormonas.

Assim, temos exemplos recentes de terapias dirigidas que estão a ser utilizadas nos tratamentos associadas ou não com terapêutica citostática:

- O bevacizumab (Avastin[®]), anticorpo monoclonal anti-VEGF utilizado no tratamento do cancro colorectal. É um anticorpo monoclonal humaniza-

do que impede a activação do receptor do VEGF a unir-se ao receptor.

- O trastuzumab (Herceptin[®]) actua de forma similar mas este anticorpo é específico para o receptor HER2 que está sobreexpressado numa considerável proporção de tumores da mama.
- Na maioria dos casos do GIST (tumores do estroma gastrointestinal), as células intersticiais experimentam um crescimento incontrolado devido a mutações na codificação genética do receptor transmembranário Kit. O imatinib (Glivec[®]) inibe a tirosinase de Kit.
- O cetuximab (Erbitux[®]), anticorpo monoclonal anti-EGFR utilizado no tratamento do cancro colorectal e da cabeça e pescoço.

IV. CONCLUSÃO

As “terapias dirigidas” são um tipo de tratamento dos mais promissores na terapêutica oncológica. As pesquisas neste campo são constantes e crescentes.

Os anticorpos monoclonais são moléculas de anticorpos produzidas em laboratórios para induzir o organismo a reconhecer e atacar estruturas de proteínas específicas da superfície celular tumoral. Ao aumentar a especificidade, aumenta-se a eficácia e diminui-se a intolerância ao tratamento.

Diferente da quimioterapia e da radioterapia, que actuam de maneira menos específica, o objectivo do tratamento com anticorpos monoclonais é o de destruir as células de modo programado, sem causar dano aos outros tipos de células do organismo.

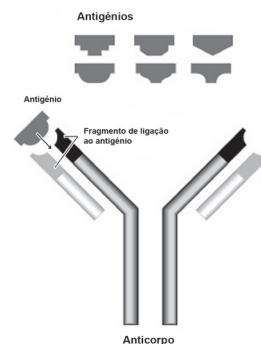
Todas as células possuem marcadores de proteína na sua superfície, conhecidos como antigénios. Os anticorpos monoclonais são “projectados” em laboratório para reconhecer especificamente marcadores proteicos específicos da superfície de algumas células cancerígenas. A seguir, o anticorpo monoclonal “fecha-se” sobre essa proteína. Essa acção desencadeia um processo de autodestruição da célula ou sinaliza o sistema imune do organismo para atacar e destruir a célula cancerígena.

Existe uma série de anticorpos monoclonais já disponíveis e aprovados para uso clínico. Os primeiros fo-

ram lançados há alguns anos e, felizmente, a cada ano surgem novas terapêuticas com novas acções e novos efeitos. Os primeiros foram os indicados para tratar os linfomas (rituximab/Mabthera[®]); posteriormente surgiram para o tratamento do cancro da mama (trastuzumab/Herceptin[®]); mais recentemente, foi disponi-

bilizado o bevacizumab (Avastin[®]) para o tratamento de cancro colo-rectal; Este age como um anticorpo, evitando a formação de novos vasos sanguíneos, fazendo com que o transporte de sangue (alimento) para o tumor seja suspenso ou frenado (efeito antiangiogénico).

Todos estes tratamentos foram inicialmente investigados em casos avançados com respostas motivadoras. Actualmente os estudos avançam no sentido da análise da sua acção em casos iniciais da doença tumoral (pacientes não metastáticos).



BIBLIOGRAFIA

- RENEHAN AG, et al. BMJ. 2001.
- HART IR. Cellular and Molecular Biology of Cancer. Eds LM Franks and NM Teich. Chapter 2, Third Edition. 1997.
- HASAN J, et al. Cancer 2002.
- TODD AND WONG. Anticancer Research. 1999.
- www.glivec.com