PAULO CESAR NAOUM
FLÁVIO AUGUSTO NAOUM

BIOLOGIA MÉDICA DO CÂNCER HUMANO

VL

PAULO CESAR NAOUM
FLÁVIO AUGUSTO NAOUM

BIOLOGIA MÉDICA DO CÂNCER HUMANO

UM BREVE RELATO SOBRE OS MAIS RECENTES PROGRESSOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS RELACIONADOS COM A BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR, IMUNOLOGIA, BIOQUÍMICA DA SINALIZAÇÃO TUMORAL, TERAPIAS, INVESTIGAÇÕES LABORATORIAIS E NUTRIÇÃO ANTICÂNCER

2016

VITRINE LITERÁRIA EDITORA

Copyright © 2016 by Paulo Cesar Naoum e Flávio Augusto Naoum

Capa e projeto gráfico: Luciano de Paula Almeida
Revisão: Paulo Rezende

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Naoum, Paulo Cesar
Biologia médica do câncer humano [livro eletrônico] / Paulo Cesar Naoum, Flávio Augusto Naoum. -- São José do Rio Preto, SP : Vitrine Literária Editora, 2016.
4 Mb ; PDF

Bibliografia

1. Biologia celular 2. Biologia - Compêndios, manuais, etc 3. Biologia - Laboratórios 4. Câncer - Diagnóstico I. Naoum, Flavio Augusto. II. Título.

ISBN 978-85-64166-59-2

CDD -574.87
16-06304 -572.8

Índices para catálogo sistemático:
1. Biologia celular 574.87
2. Biologia molecular 572.8

Vitrine Literária Editora
contato@vitrineliteraria.com.br
www.vitrineliteraria.com.br
(17) 3033-7200 - 99142-9064

Contato com os autores
a.c.t@terra.com.br

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta edição pode ser utilizada ou reproduzida em qualquer meio ou forma, seja mecânico ou eletrônico, fotocópia, gravação etc, nem apropriada ou estocada em sistema de banco de dados, sem a expressa autorização dos autores.

DEDICATÓRIA

Este livro é dedicado a:

Alia Fernandes Maluf Naoum, pelo estímulo dado aos autores durante a elaboração deste livro e por sua execução da arte cenográfica do filme científico intitulado *"Câncer: conhecer, prevenir e vencer"*, disponível no www.youtube.com nas versões em português e inglês.

Adeli Cury Naoum, que padeceu com dignidade das consequências de um câncer fatal numa época em que o câncer era o *imperador de todos os males*[1].

Afifa Jabur Maluf, que ao longo de 45 anos tem travado batalhas seguidas contra três diferentes tipos de câncer e, ao vencê-las, mostrou que o *imperador de todos os males* não é imbatível, mas é preciso estar sempre vigilante.

Aos pesquisadores científicos que buscam incessantemente entender cada vez mais as células tumorais, descobrindo novas formas de identificação e de tratamentos do câncer.

Aos médicos que optaram por enfrentar a mais difícil batalha de suas vidas, qual seja, a de dar vida e esperança a pessoas com câncer.

---

1 Referência ao livro *O Imperador de todos os males* de autoria de Siddhartha Mukherjee, editado pela Companhia das Letras, São Paulo, 2010.

PREFÁCIO

Este livro teve por princípio apresentar breves e objetivas informações sobre as recentes revelações biológicas relacionadas com as células tumorais e com o câncer, sem, no entanto, cometer o equívoco de defini-las. De fato, definições sobre origens e causas do câncer, entre outros conhecimentos que abrangem essa doença, são passageiras à medida que novas informações científicas e tecnológicas sejam comunicadas. A complexidade do câncer humano nos revela, por exemplo, que uma simples célula normal produz cerca de 20.000 proteínas e enzimas diferentes. Quando uma ou mais proteínas ou enzimas se alteram estruturalmente, suas funções podem se modificar e causar repercussões metabólicas absurdas nas células. Essas transformações celulares ocorrem a todo momento em nosso organismo, mas processos biológicos de preservação das espécies induz a morte das células modificadas, num processo natural de saneamento biológico para preservar o tecido ou o órgão. Entretanto, na conjunção de diversos fatores adversos às suas funções normais, advindos cumulativamente das adversidades ambientais, de hábitos pessoais não saudáveis, de estresse e de doenças crônicas, faz com que as células alteradas resistam ao saneamento biológico e continuem se transformando *silenciosamente* no microambiente tecidual. Ao longo de meses ou de anos, as células modificadas se tornam mandantes funcionais de uma pequena parte do órgão que as contém. Essa maneira biológica de agir, que se inicia a partir de um pequeno grupo de células anormais, ao somar milhões de unidades celulares, compõe o *tumor primário*. Esse pequeno tumor, ao alcançar o tamanho aproximado de 2 milímetros, é capaz de produzir proteínas e enzimas anormais em quantidades suficientes para emitir sinais biológicos e/ou patológicos que revelam sua presença. Entretanto, ao atingir o tamanho de 4 milímetros, esses sinais passam a ser mais evidentes e detectáveis em análises laboratoriais e de imagens. Ocorre que, para alguns tipos de tumores, associados às condições orgânicas do portador, o aumento de tamanho de 2 para 4 milímetros acontece num espaço de tempo variável de poucos

meses a muitos anos. Sempre se imaginou que o câncer provém de um descontrole do crescimento celular, porém agora se sabe que, paradoxalmente, as células tumorais são biologicamente controladoras de suas ações e das ações de células normais em seu entorno, incluindo alguns tipos de células de defesas imunológicas. Esse domínio das células tumorais promove inter-relações com o microambiente em que estão, facilitando a acomodação anatômica e fisiopatológica do tumor. Para entender os segredos dos principais tipos de câncer, os autores deste livro tomaram por base uma relevante pesquisa realizada em 2013, em que foram estudados materiais celulares e genéticos de 3.284 tumores. Os resultados dessa pesquisa mostraram que há 294.881 mutações diversas causadoras de cerca de 200 tipos diferentes de câncer. Todas essas mutações têm origem em 125 genes condutores, os *Mut-drivers*, todos já bem identificados, dos quais 71 são genes supressores de tumor e 54 são oncogenes. Mas há, também, os fatores epigenéticos, motivados por interferências ambientais e dos hábitos pessoais e que comprometem aproximadamente 175 genes, os *Epi-drivers*, a maioria ainda não totalmente identificados da forma como agem. Portanto, é possível imaginar que algo próximo de 300 genes do nosso genoma estão envolvidos na origem dos diferentes tipos de câncer. Destaque-se, também, a complexidade genética de cada tipo de tumor, situação que torna mais difícil entender a biologia do câncer de cada pessoa. Essa informação se fundamenta em que alguns tipos de tumores, como são os casos do câncer de mama, têm pelo menos 33 mutações distintas, enquanto que o de próstata tem 41, e o de pulmão, em geral, tem 310 mutações.

Todas as informações, obtidas em recentes publicações científicas de periódicos especializados em cancerologia e biologia médica, serviram de base para que fossem apresentados, discutidos e interfaceados temas sobre a biologia da célula tumoral, a biologia molecular dos genes envolvidos na gênese tumoral, a genética evolutiva do câncer, a imunologia que controla o desenvolvimento tumoral, a bioquímica molecular dos processos das vias de sinalização celular que ativam ou desativam as células tumorais, os alvos moleculares de novos agentes terapêuticos, os principais exames de marcadores tumorais para diagnósticos de câncer em sua fase inicial, e a

importância alimentar de nutrientes protetores ou indutores das transformações de células normais em tumorais.

Ao finalizar esse prefácio, é preciso enfatizar que o estudo realizado ao longo de cinco anos, e que resultou neste livro, revelou, até o presente, que o câncer explora de forma sinistra todos os desvios biológicos possíveis para estabelecer o seu *poder* no organismo. Entretanto, essa forma de exploração maligna tem a colaboração do próprio ser humano que, por meio de sua exposição às hostilidades ambientais e aos hábitos pessoais sabidamente deletérios, provém 90% das causas estimuladoras que transformam células normais em tumorais. Por mais que a medicina se especialize na conduta clínica e nos cuidados terapêuticos das pessoas com câncer, e por mais que a biologia revele os segredos do comportamento das células tumorais, o câncer somente será vencido quando a população adquirir hábitos saudáveis e higiênicos de convivência, e o governo, por meio de políticas públicas responsáveis, prover a população com saneamento ambiental abrangente, na constância do desenvolvimento educacional e cultural, e nos atendimentos médicos e sanitários de qualidade a quem necessitar.

Os autores.

São José do Rio Preto, março de 2016.

ÍNDICE

DEDICATÓRIA....4
PREFÁCIO....5

CAPÍTULO 1: INTERFACES CELULAR, MOLECULAR, IMUNOLÓGICA E TERAPÊUTICA DO CÂNCER HUMANO....10
- Introdução....10
- Interface celular....13
- Interface molecular....28
- Interface imunológica....31
- Interface terapêutica....35
- Conclusão....42
- Referências....43

CAPÍTULO 2: SINALIZAÇÃO CELULAR DO CÂNCER HUMANO....45
- Introdução....45
- Cinética celular....47
- Sinalização celular....50
- Vias de Sinalização Celular Relacionadas a Tumores....52
  - 1. Sinalização de Ras....53
  - 2. Sinalização de GCPR....57
  - 3. Sinalização de TGF-Beta....59
  - 4. Sinalização de GFs com destaque para EGFR....62
  - 5. Sinalização de Wnt....66
  - 6. Sinalização de NF-κβ....68
  - 7. Sinalização de NOTCH....71
  - 8. Sinalização de AKT (ou PBK)....73
  - 9. Sinalização de Hedgehog....76
- Conclusão....78
- Referências....79

CAPÍTULO 3: MARCADORES TUMORAIS APLICÁVEIS NO DIAGNÓSTICO E CONTROLE DO CÂNCER HUMANO....81
- Introdução....81
- Proveniência biológica dos principais marcadores tumorais....92
- Principais marcadores tumorais em uso clínico e laboratorial....95
- Marcadores de neoplasias hematológicas....118
- Conclusão....121
- Referências....123

CAPÍTULO 4: TERAPIAS ANTICÂNCER HUMANO E SEUS ALVOS NAS CÉLULAS TUMORAIS 127
Introdução 127
Biologia antitumoral da radioterapia 132
Citoespecificidades da ações de drogas antitumorais 134
1. Drogas alquilantes e instabilizadoras de DNA tumoral 137
2. Agentes antimetabólicos 139
3. Antibióticos inibidores de nucleotídeos 140
4. Drogas hipometilantes 143
5. Drogas anti-radicais livres 144
6. Inibidores de receptores intracelulares de hormônios 146
7. Inibidores de enzimas de transformação hormonal 149
8. Inibidores de angiogênese 150
9. Inibidores de tirosina-quinase 153
10. Inibidores das proteassomas 156
11. Inibidores dos microtúbulos 158
12. Inibidores de mTOR 160
13. Inibidores de PI3Ks 161
14. Inibidores da desacetilização das histonas (HDIs) 163
15. Inibidores da via de Hedgehog 165
16. Anticorpos monoclonais anti-tumorais 167
17. Indução de mecanismos biológicos anticâncer 171
Conclusão 172
Referências 174

CAPÍTULO 5: BIOLOGIA DOS NUTRIENTES QUE PODEM INDUZIR OU EVITAR O CÂNCER HUMANO 177
Introdução 177
Nutrientes que contribuem para a indução de câncer 179
As gorduras tóxicas e seus efeitos deletérios ao organismo 181
As nitrosaminas e seus efeitos deletérios ao organismo 182
Alimentos defumados e seus efeitos deletérios ao organismo 182
Corantes de alimentos e seus efeitos deletérios ao organismo 183
Agrotóxicos e seus efeitos deletérios ao organismo 183
Nutrientes que contribuem para evitar o câncer ou minimizar os efeitos do câncer 184
Fibras 184
Vitamina A 185
Selênio 185
Alimentos com propriedades antitumorais 186
Conclusão 194
Referências 195

OS AUTORES 197

CAPÍTULO 1

INTERFACES CELULAR, MOLECULAR, IMUNOLÓGICA E TERAPÊUTICA DO CÂNCER HUMANO.

Paulo Cesar Naoum

INTRODUÇÃO

O câncer é um produto natural da própria evolução humana, bem como do desequilíbrio ambiental, dos hábitos pessoais e do envelhecimento.

A importância que atualmente se dá ao câncer está fundamentada na sua incidência, nos meios disponíveis para o diagnóstico precoce e na diversidade de tratamentos para combatê-lo. Sob o ponto de vista da sua incidência no Brasil, as recentes avaliações estatísticas indicam que, a cada ano, aproximadamente 500 mil pessoas são diagnosticadas com câncer (27). Se considerarmos que a média de vida de uma pessoa com câncer é de cinco anos, supõe-se que há atualmente cerca de 2,5 milhões de pessoas com esta doença no Brasil (13). É necessário destacar que 84% dos casos de câncer diagnosticados em nosso país se resumem a somente 17 tipos específicos entre os quase 200 conhecidos (tabela 1).

Tabela 1: Estimativa do Instituto Nacional do Câncer do Brasil para o surgimento de novos casos de câncer para o período de 2012-2013, por tipo, sexo e o total esperado (27).

Tipo de Câncer	Masculino	Feminino	Total
1 – Pele não melanoma	62.680	71.490	134.170
2 – Próstata	60.180	–	60.180
3 – Mama	–	52.860	52.860
4 – Cólon e Reto	14.180	15.960	30.140
5 – Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.210	10.110	27.320
6 – Estômago	12.670	7.420	20.090
7 – Cavidade Oral	9.990	4.180	14.170
8 – Glândula Tireóide	–	10.590	10.590
9 – Esôfago	7.770	2.650	10.420
10 – Linfoma Não-Hodgkin	5.190	4.450	9.640
11 – Sistema Nervoso Central	4.820	4.450	9.270
12 – Bexiga	6.210	2.690	8.900
13 – Leucemias	4.570	3.940	8.510
14 – Pele melanoma	3.170	3.060	6.230
15 – Ovário	–	6.190	6.190
16 – Laringe	6.110	–	6.110
17 – Corpo do útero	–	4.520	4.520
Subtotal do tipos mais comuns	214.750	204.560	419.310
Outros tipos de câncer*	43.120	38.720	81.840
Total de todos os tipos de câncer	**257.870**	**243.280**	**501.150**

*Refere-se a cerca de 200 diferentes tipos de câncer.

O diagnóstico precoce do câncer, muitas vezes referido como "prevenção do câncer", depende de pelo menos três informações básicas:

- todos os tumores malignos têm origem genética, a maioria afetando as moléculas de DNA e RNA de diversos genes relacionados com os controles da divisão, diferenciação e morte celular;
- 90% de todos os tipos de câncer são de causas adquiridas, quer sejam por instabilidades naturais de oncogenes ou de genes supressores de tumor, ou então induzidos por compostos físicos e químicos, provenientes do meio ambiente ou de hábitos pessoais, e das toxidades causadas por alguns tipos de vírus;
- 5% dos cânceres são hereditários (por exemplo: câncer de mama por deficiência dos genes supressores BCRA1 e BCRA 2, retinoblastoma, síndrome de Li-Fraumeni, etc.) (4,23).
- 5% dos cânceres são constitucionais, quer sejam por *mutações espontâneas*, que ocorrem como processo natural da nossa própria evolução e que podem originar células tumorais, por *deficiências imunológicas crônicas* desde o nascimento ou a partir de uma fase da vida, e por *patologias primárias*, por exemplo, o albinismo, que por deficiência de proteínas de proteção tecidual favorece o desenvolvimento de câncer de pele (29).

Apesar de todos os conhecimentos acumulados nas últimas duas décadas em tecnologias citológicas, moleculares, imunológicas e terapêuticas sobre células tumorais e desenvolvimento do câncer, observa-se que há pouca inter-relação que os permeia no sentido de agregação sinérgica de entendimento e aplicabilidade. Na busca desse sentido, elaboramos esse capítulo com o objetivo de facilitar o atual entendimento do câncer para aqueles que se interessam em conhece-lo cientificamente, quer seja sob o ponto de vista da estrutura científica ou da importância inter-relacionada de quatro temas básicos: celular, molecular, imunológico e terapêutico.

INTERFACE CELULAR

Atualmente se sabe que a transformação da célula normal em célula tumoral obedece várias fases, que são definidas conforme as observações de cada pesquisador. Se considerarmos a visão celular, por exemplo, podemos definir em quatro o número de etapas que transformam as células normais em células tumorais:

1. Alterações genéticas que causam translocações cromossômicas, mutações ou amplificações nas atividades de oncogenes e de genes supressores;
2. Anormalidades proteicas, enzimáticas ou hormonais, provenientes das alterações acima descritas, que alteram as sinalizações celulares;
3. Crescimento das células tumorais (tumor primário) que afetam determinados tecidos e órgãos;
4. Células tumorais que se deslocam do tumor primário para outros tecidos e órgãos (metástase), causando o câncer, propriamente dito.

É importante realçar na etapa 3 que a massa tumoral provoca inflamação na região de sua implantação e atrai ramificações de novos vasos sanguíneos para alimentarem as células tumorais. Mas o organismo também reage à presença da massa tumoral, utilizando-se principalmente da atuação de células imunológicas e de todos os seus recursos de bloqueios para inviabilizar o tumor (5, 22). A figura 1 resume esquematicamente essas quatro etapas, destacando-se que, normalmente, todas elas são interdependentes, com atividades qualitativas ou quantitativas que estimulam sinalizações equilibradas para que ocorra adequadamente a divisão celular, o metabolismo bioquímico da célula e o tempo de vida celular (3, 25).

A TRANSFORMAÇÃO DA CÉLULA NORMAL EM CÉLULA TUMORAL

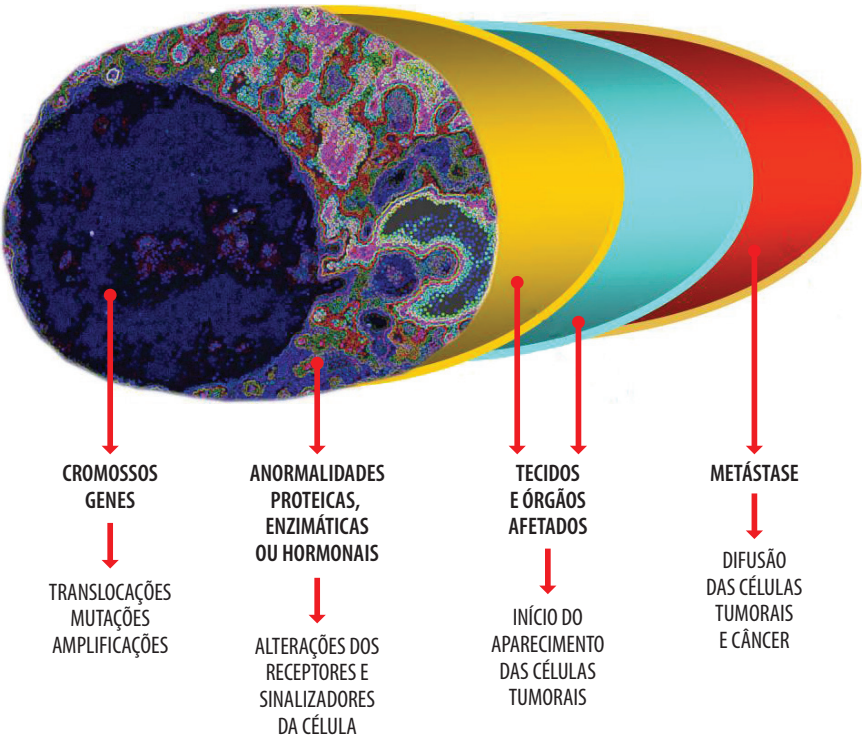


Figura 1
As quatro etapas sequentes que transformam células normais em tumorais.

A transformação da célula normal em tumoral ocorre por várias razões, destacando-se as induções por mutações espontâneas, as mutações estimuladas por produtos tóxicos provenientes do meio ambiente e hábitos pessoais, a sua incapacidade em reparar erros moleculares causados por mutações e, sobretudo, pela ineficiência imunológica em eliminar células tumorais (22). Sob o ponto de vista citológico e histológico, essas modificações que transformam células normais em tumorais e câncer propriamente dito ocorrem ao longo de vários anos (tabela 2).

Tabela 2: Alguns tipos de câncer relacionados com tempo de aparecimento do tumor primário e do tempo de transformação desse tumor em doença.

Tipo de câncer	Tempo de aparecimento do tumor primário	Tempo de transformação em doença
Adenoma de Cólon*	5 a 20 anos	5 a 15 anos
Cabeça/Pescoço	4 a 10 anos	6 a 8 anos
Cérvix	CIN: 9 a 13 anos	CIN/CIN3: 10 a 20 anos
Pulmão*	5 a 20 anos	20 a 40 anos
Mama**	6 a 10 anos	6 a 10 anos
Próstata	20 a 30 anos	3 a 15 anos

*Influenciado por fatores epigenéticos;

**Aparecimento de alterações celulares atípicas como indicadoras de tumor primário; CIN: carcinoma intra epitelial, CIN3:Fase 3 do carcinoma intraepitelial. Adaptado de Weinberg (25).

Por outro lado, a transformação da célula normal em tumoral acontece de duas formas: linear, ou monoclonal, e ramificada, ou policlonal (figuras 2 e 3). Na transformação linear a célula normal sofre algum tipo de mutação que a transforma lenta e gradualmente, sem que suas características citológicas sejam profundamente alteradas. Na transformação ramificada as mutações são muito dinâmicas e mais rápidas, com diferentes clones mutantes atuando ao mesmo tempo, e esse fato resulta na diversidade de células para um mesmo tipo de câncer (7,12).

AS MODIFICAÇÕES QUE OCORREM SE DEVEM À CAPACIDADE DAS CÉLULAS TUMORAIS EM SE TRANSFORMAREM GENETICAMENTE E MORFOLOGICAMENTE DE FORMA LINEAR (MONOCLONAL) OU...

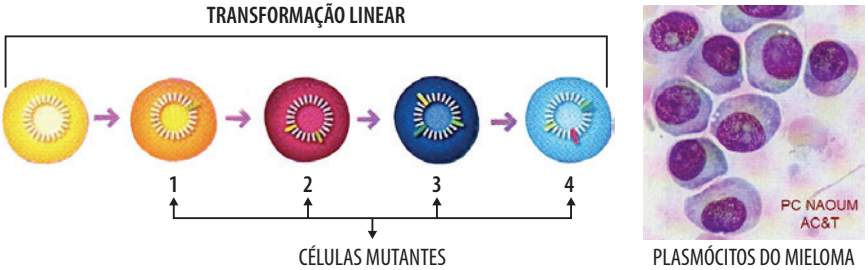
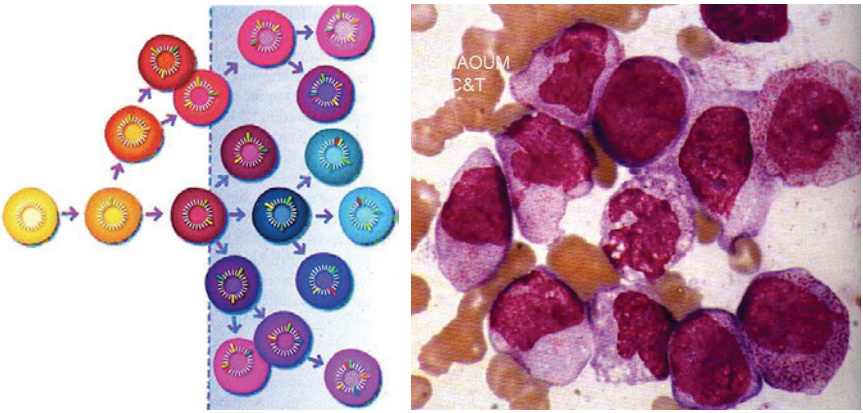


Figura 2
Mecanismos biológicos que estimulam a sinalização celular.
Adaptado de Kilpivaara (7).

PROLIFERAÇÃO TUMORAL DO TIPO POLICLONAL COM DIFERENTES CLONES CELULARES MUTANTES QUE RESULTAM EM DIVERSIDADES CELULARES NO TUMOR

TRANSFORMAÇÃO RAMIFICADA (POLICLONAL)



VÁRIAS MUTAÇÕES DIVERSIDADE DE CÉLULAS NA LMA-M4

Figura 3
Transformações celulares causadas por mutações sequentes que atingem vários clones celulares ao mesmo tempo, caracterizando a forma policlonal ou ramificada. Adaptado de Kilpivaara (7).

A massa de células normais que forma o tumor maligno primário desorganiza intensamente o microambiente tecidual. Inicialmente, as células tumorais não obedecem aos sinais biológicos normais para o controle da divisão celular, fazendo-as crescer desordenadamente e formando grupos de células que comprimem a região do tecido em que estão inseridas. A excessiva liberação de enzimas e de produtos proteicos, por parte das células tumorais, atrai as células de vigilância imunológica, notadamente as células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, linfócitos CD4, CD8, e as células CD45. Atraem também as plaquetas, células necessárias

para restaurar vasos sanguíneos rompidos pelo crescimento tumoral primário (5,15). Todo esse desenvolvimento de alterações celulares resulta em inflamação tecidual que, na maioria das vezes, é restaurada pela competência imunológica, ou então por autoinfartos tumorais promovidos pela compressão das células tumorais que cresceram desordenadamente em torno dos vasos sanguíneos que alimentariam o tumor (25). Entretanto, é possível que a massa tumoral primária resista aos meios naturais de eliminação, tornando-se dormente, e nesse estado pode participar de perversa cooperação biológica que muitas vezes ocorre entre as próprias células tumorais, as células da matriz extracelular do tecido afetado e alguns macrófagos "corrompidos". Dessa feita, as células tumorais se desenvolvem lentamente, por anos e com tempo suficiente para se especializarem no entendimento da dinâmica das defesas imunológicas do tecido ou órgão em que estão crescendo. Em tumores malignos tratados com quimioterápicos, por exemplo, algumas células tumorais conseguem um efeito adaptativo contra os componentes químicos das drogas e desenvolvem mecanismos biológicos que as tornam resistentes frente a alguns tipos de quimioterápicos. Essa resistência tem sido identificada em células tumorais que produzem enzimas dos tipos proteases serina e cisteína, que protegem suas membranas não apenas contra os efeitos das drogas quimioterápicas utilizadas por longo tempo no tratamento do tumor, mas também contra a ação das células imunológicas (8,21).

Atualmente o entendimento da transformação da célula normal em tumoral tem sido direcionado aos mecanismos de sinalização celular promovida por moléculas proteicas, hormonais ou enzimáticas. Participam da sinalização celular os seguintes componentes:

- indutores de sinalização, compostos por interleucinas ou citocinas, hormônios específicos, fatores de crescimento celular e alguns tipos de vírus;
- receptores celulares localizados nas partes interna ou externa da membrana da célula, bem como na forma de transmembrana;
- sinalizadores citoplasmáticos, que desencadeiam reações em série para estimular os sinalizadores nucleares (transdução);
- sinalizadores nucleares, que atuam diretamente nas moléculas do

DNA de diferentes genes (transcrição), promovendo mensagens à reprodução ou divisão celular, à diferenciação da linhagem celular e à apoptose. A figura 4 mostra esquematicamente esses componentes.

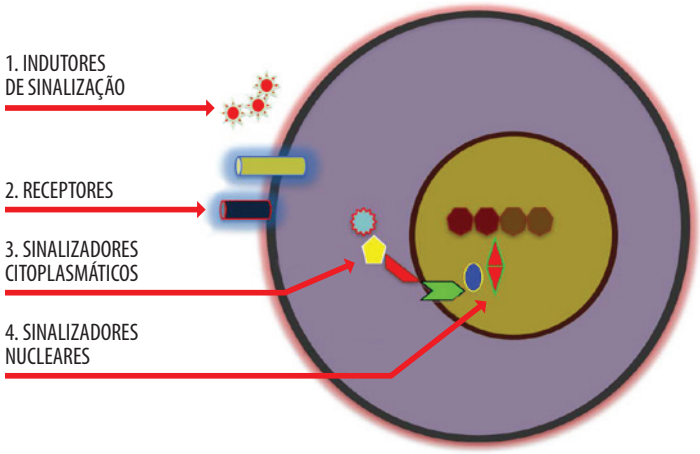


Figura 4
Participantes biológicos da sinalização celular

De uma forma geral, portanto, podemos considerar que somente as vias de sinalização envolvem por volta de 800 a 1.000 moléculas de proteínas, enzimas e hormônios que atuam sincronicamente na comunicação intra e intercelular. É evidente que erros nos processos de sinalização, causados por oncogenes, genes supressores de tumor e epigenes, podem causar transformações de células normais em tumorais, bem como determinar, também, outras doenças crônicas, por exemplo: diabetes, hemocromatose, doenças autoimunes, etc. (1,26).

Por conseguinte, a célula normal se torna tumoral quando ocorre um ou mais dos seguintes eventos que alteram o processo de sinalização:

- Excesso de indutores de sinais que penetram continuamente na célula (por exemplo: macrófagos anormais que produzem excessiva concentração de fator de crescimento tumoral, ou TGF-beta);
- Receptores de membrana da célula que aceitam mais indutores de sinais, (por exemplo: amplificação dos genes do grupo HER que produzem receptores, aumentando-os na quantidade de recepção da indução de sinais);
- Sinalizadores que deixam de estimular os genes de reparo da lesão molecular (por exemplo: mutações no gene BRCA1 e BRCA2);
- Sinalizadores que induzem a divisão celular (por exemplo: mutações no gene RAS);
- Sinalizadores que deveriam atuar na diferenciação e maturação celular (por exemplo: mutações no gene AKT);
- Sinalizadores que deixam de induzir a apoptose das células tumorais (por exemplo: mutações no gene P53).

Estudos recentemente efetuados sobre processos de sinalização de células tumorais concluíram que há nove vias de sinalização, denominadas RAS, Wnt, GCPR, Notch, AKT, NF-Kβ, Hedgehog, TGFβ e EGFR. Entre essas vias destacam-se as de RAS, GCPR, TGFβe NF-Kβ. A sinalização de RAS é uma das mais pesquisadas por participar ativamente do controle da apoptose e da divisão celular. Mutações em componentes dessa via podem estimular transformações de células normais em tumorais, portanto a importância que se dá à sinalização de RAS se deve ao fato dela participar como via efetora de outras duas sinalizações, a GCPR e a TGFβ. A GCPR, por exemplo, tem receptores que, além de serem do tipo transmembrana, são estruturalmente grandes, e por essa razão são alvos de 40% de todos os medicamentos modernos. A sinalização de TGFβ, por sua vez, é acionada por indutores com o mesmo nome (TGFβ), secretados por macrófagos que acessam a região inflamada do tumor. Por essas razões, as principais formas de bloqueios terapêuticos dessa via estão ligadas aos controles imunológicos

das ações dos macrófagos. Por fim, a sinalização de NF-Kβ está regulada pelo epigene NF-Kβ, que sofre influências de produtos químicos provenientes do fumo, das dietas ricas em nitrosaminas e gordura trans, das radiações de raios-X e ultravioleta, das toxicidades moleculares causadas por infecções de alguns tipos de vírus, e dos descontroles metabólicos causados por estresses celulares provenientes do uso crônico de alguns tipos de drogas lícitas e ilícitas, entre outros(2). Um resumo dessas vias de sinalização pode ser apreciado na tabela 3. A figura 5 esquematiza as oito vias de sinalização, com seus receptores principais, e indicações específicas para as formas de atividades tumorais (oncogenes, supressores ou estruturais).

Tabela 3: Anormalidades de proteínas sinalizadoras e receptoras que induzem o aparecimento de tumores

Ação Anormal	
RAS	Oncogene amplificado ou mutado
Wnt	Oncogene amplificado
GCPR	Oncogene amplificado
Notch	Oncogene amplificado ou mutado
NFKβ	Oncogene mutado
Hedgehog	Oncogene mutado
TGFB	Amplificação do receptor de TGFB (TGF/BMPR)
EGFR	Amplificação do receptor (ex: Her 1, Her 2, Her 3)

Localização	
RAS	Citoplasma
Wnt	Indutor extracelular
GCPR	Transmembrana
Notch	Transmembrana
NFKβ	Transmembrana
Hedgehog	Transmembrana
TGFB	Indutor produzido p/macrófagos
EGFR	Transmembrana

Função Anormal	
RAS	Induz a divisão celular e inibe a apoptose
Wnt	Induz a divisão celular
GCPR	Induz vias de sinalização de RAS para divisão celular
Notch	Induz a divisão celular e inibe a diferenciação celular e apoptose
NFKβ	Induz a divisão celular e inibe a apoptose
Hedgehog	Induz a divisão celular e angiogênese
TGFB	Induz a divisão celular e inibe a apoptose
EGFR	Induz a divisão celular, inibe a apoptose, induz a angiogênese e metástase

Sinalização	**Anormal**
RAS	**Da apoptose** RAS → P110 → PIP3 → (Inibe) → AKT → CASPASE (Inibição) → → APOPTOSE **Da divisão celular** RAS → MEK → ERK → Divisão celular acelerada
Wnt	**Da divisão celular** Wnt → Frizzled → B Catenina → MYC → Ciclina D → CD 44 → → Divisão celular acelerada
GCPR	**Ligante**** → GCPR → GTP → GTP-RAS → MYC → Ciclina → → CD44 → Divisão celular acelerada
Notch	**Indutores***** → EGF-NOTCH → Fragmentos de NOTCH → → Ativação do DNA para: - Divisão celular Acelerada - Inibe a diferenciação celular - Inibe a apoptose
NFKβ	**Indutores****** → TRAF → IKK → NFKβ – Ikβ + Proteossomo → → Degradação → Induz a divisão celular acelerada e inibe a apoptose
Hedgehog	Hedgehog → Patched → GLI + Proteossomo → Ciclina D e E → → Divisão celular acelerada
TGFB	TGFβ → RAS → MEK → ERK → Divisão celular acelerada
EGFR	**Ligante**** Da via AKT PI3K → AKT → M Tor → Divisão celular acelerada Inibe a apoptose. Estimula a angiogênse Metástase **Da via RAS** Tirosina-quinase → GRB2 → SOS → RAS → MEK → ERK Divisão celular acelerada

Tumores Associados*	
RAS	Colorretal Bexiga Mama Pâncreas Melanoma Ovário Gástrico Pulmão
Wnt	Mama Próstata Glioblastoma
GCPR	Ovário Tireóide Colorretal Kaposi Próstata Gastrintestinal
Notch	LLA-T Próstata Mama CA Cérvico Pulmão
NFKβ	Mieloma LLA Próstata Mama
Hedgehog	Células basais de pele Meduloblastoma
TGFB	Colorretal Pâncreas Gastrintestinal
EGFR	Mama Pulmão Anal Glioblastoma

*Estão listados apenas os principais tumores

**Ligantes: hormônios, carcinógenos, etc

***Indutores: fragmentos de Notch provenientes de células vizinhas

****Indutores: vírus, bactérias, hipóxia, estresse.

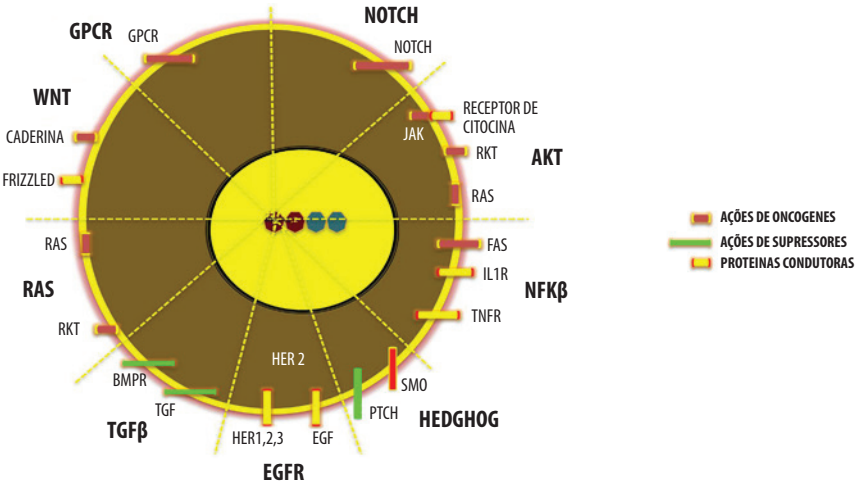


Figura 5
As nove vias envolvidas na sinalização de células tumorais, com destaques para receptores de membrana e suas formas de ação. Figura adaptada conforme informações de Weinberg RA (25).

Entre todas as proteínas e enzimas envolvidas no processo de sinalização celular, pelo menos sete delas merecem destaque no atual momento: as enzimas **quinases**, as proteínas **RAS**, a proteína **P53**, as **caspases**, a proteína **MYC**, as proteínas **BRCA1** e **BRCA2**, e os receptores do grupo **Her**.

Quinases: São enzimas que transferem grupos fosfatos de moléculas doadoras de alta energia (por exemplo: ATP) para moléculas alvo específicas (por exemplo: moléculas de tirosina-quinase do gene quimérico BCR/ABL causador da leucemia mielóide crônica). As quinases são proteínas transmembranas que atuam externamente à célula como receptoras de moléculas e, internamente, como transmissoras de sinais (transdução) (25).

RAS: Sigla proveniente de **Ra**ts **S**arcoma. É um conjunto de diferentes proteínas (H-RAS, K-RAS, N-RAS, etc.) que atuam como ativadores de sinalização quando se ligam à guanosina trifosfato (RAS-GTP), ou como

desativadores de sinalização quando se ligam à guanosina difosfato (RAS-GDP). As mutações nos genes que codificam as proteínas RAS causam entre 20 a 30% de todos os tumores malignos, uma vez que as ligações RAS-GTP são hiperativas e estimulam as células tumorais a se dividirem continuamente. Pelo fato das proteínas RAS, normais ou mutantes, estarem dentro das células, elas são inacessíveis às drogas, que não conseguem atravessar a membrana celular. A busca de nanopartículas terapêuticas carregadas com quimioterápicos-alvos contra RAS-GTP está sendo considerada como uma possível solução contra o desenvolvimento de células tumorais originadas por meio desse tipo via de sinalização (20).

P53: A proteína P53 é produzida pelo gene supressor de tumor, também denominado de gene P53, e atua como um sensor das transformações fisiológicas da célula. Nessa situação a proteína P53 efetua reparos de danos estruturais causados por mutações na molécula de DNA ou, então, atua induzindo a morte celular como forma de evitar o crescimento de células tumorais. Mutações no gene supressor P53 são causas de 50% de alguns tipos de tumores (por exemplo: câncer de ovário, esôfago, HPV, sarcomas de tecidos moles, osteosarcoma, pulmão, pâncreas e córtex adrenal) e impedem que a proteína P53 repare os danos ao DNA ou que induza a célula tumoral à morte (12).

Caspases: Sigla proveniente de **c**ysteine **aspa**ragine protea**ses**. As caspases são muito importantes por atuarem na indução da morte celular quando esta é agredida por inflamações e toxidades causadas por compostos químicos. O desencadeamento da apoptose promovida pelas caspases ocorre no metabolismo mitocondrial. Como a formação de tumor causa inflamação localizada, muitas vezes o insucesso da propagação tumoral se deve a ação protetiva das caspases que induzem as células tumorais à morte (12).

MYC: Sigla proveniente de **my**elo**c**ytomatosis viral avian. É uma proteína codificada pelo oncogene MYC e que tem sua atuação dentro do núcleo, regulando o ciclo celular, a diferenciação da linhagem celular, o

metabolismo, a regulação da morte celular e, também, a angiogênese. Interage com várias proteínas que atuam no controle do ciclo celular, principalmente as ciclinas D e E, CD44, p15, p21 e p27. Toda a ação de MYC depende de sua ligação com a proteína MAX (MYC-MAX) que ativa a proliferação celular, ou com o seu rompimento com MAX, dando espaço para a proteína MAD (MAD-MAX) que desativa a divisão celular. A ativação inadequada do gene MYC, quer seja provocada por translocação cromossômica, por amplificação, ou por inserção de RNA viral, altera completamente a regulação do ciclo celular, ativando continuamente o sistema MYC-MAX. 100% do Linfoma de Burkitt se devem à expressão do oncogene MYC (inserção do retrovírus Epstein-Baar), e entre 25 a 70% dos tumores de fígado, cólon, pele (melanoma), colo de útero, pulmão, próstata, bexiga, ovário, mama e sistema gástrico, também se devem à expressão do oncogene MYC (25).

BRCA1 e BRCA2: sigla proveniente de **Br**east **Ca**ncer. São genes supressores de tumor e que são transmitidos hereditariamente pelo homem ou pela mulher. As proteínas produzidas por esses genes atuam no reparo do DNA quando afetado por mutações. Assim, quando os genes supressores BRCA1 e BRCA2 sofrem mutações, eles diminuem a síntese dessas proteínas reparadoras, dando chances ao desenvolvimento de tumores de mama e de ovário na mulher, além de tumores de pâncreas e de próstata no homem. Especificamente para o homem, mutações no BRCA1 podem causar também tumor de testículo, e mutações no BRCA2 podem causar tumor de mama. É importante salientar que quando a mulher tem mutação nos genes BRCA1 ou BRCA2 suas chances de desenvolver tumor de mama ou ovário é de 60% até os 50 anos de idade, e de 80 % após os 50 anos de idade (11).

HER: Sigla proveniente de **Her**statin. O grupo de receptores HER são diferenciados em HER1, HER2, HER3 e HER4, e todos compõem um receptor maior, o EGFR (Receptor do Fator de Crescimento Epidermal). A importância se deve ao fato de que o receptor HER2, quando amplificado, pode

causar tumor de mama em 25 a 30% das mulheres positivas para este teste e com o impacto de mal prognóstico. Por outro lado, a identificação molecular de HER2 e de suas características como receptor transmembrana motivou a criação de uma das mais modernas estratégias terapêuticas para controlar determinados tipos de câncer. A tecnologia de produção do primeiro anticorpo monoclonal humanizado, a *herceptina*, permite o bloqueio do excesso de receptores HER2 e, consequentemente, inibe a progressão das células tumorais (13,16).

INTERFACE MOLECULAR

A biologia molecular dos tumores malignos passou a ter importância médica quando várias publicações científicas sugeriram que, para um determinado tipo de câncer, extraído de diferentes pessoas e com citologias aparentemente homogêneas, havia evidentes desigualdades sob o ponto de vista das análises de DNA das células tumorais. Essas desigualdades, inclusive, se relacionavam com bons ou maus prognósticos e com sucessos ou insucessos das respostas terapêuticas (4). De fato, essa conclusão já era esperada, por sabermos que cada um dos nossos cromossomos é uma extensa molécula de DNA, composta por centenas a milhares de genes. Entre esses genes há os proto-oncogenes, que ao serem afetados por mutações podem se tornar genes tumorais, ou oncogenes. Os oncogenes produzem proteínas, enzimas ou hormônios anormais em quantidades ou em qualidade suficientes para transformarem células normais em tumorais. Há, também, os genes capazes de inibirem o desenvolvimento de células tumorais, atuando como reparadores de lesões moleculares causadas pelos oncogenes, e esses genes são conhecidos como supressores de tumor. É importante destacar que as proteínas e enzimas produzidas por oncogenes são mais prevalentes no citoplasma do que no núcleo, enquanto que as proteínas e enzimas produzidas pelos genes supressores têm maior presença no núcleo em relação ao citoplasma (7,15,17).

Em 2013 um grupo de pesquisadores publicou o resultado de uma

análise abrangente que obteve de genes tumorais provenientes de diversos tipos de câncer. Essa análise evidenciou que há enormes dificuldades para se diagnosticar tumores e tipos de câncer tendo por base apenas o estudo molecular. Essas pesquisas mostraram que em análises efetuadas com 3.284 tumores, extraídos de cerca de 200 pessoas com diferentes tipos de câncer, havia 294.881 mutações distintas umas das outras, e que estavam distribuídas em 125 genes condutores ou *mut-drivers*. Esses valores revelaram que havia, em média, 2.359 mutações por gene, e mostraram, também, que em tumores sólidos de mama, cólon, cérebro e pâncreas era possível identificar entre 30 a 60 mutações que se diferenciavam entre si. Esses resultados esclareceram de fato que diagnósticos de tumores se revelam mais precisos quando feitos por meio de várias tecnologias e evidências clínicas (19).

Por outro lado, aplicações da tecnologia molecular se tornam importantes quando há o interesse em prevenir-se de um determinado tipo de câncer como, por exemplo, BRCA1 e BRCA2 para tumores de mama e ovário, HER2 para tumor de mama, e RB1 para retinoblastoma, entre outros. Apesar de tudo, e do otimismo dos biólogos moleculares, mesmo sendo o câncer uma doença de genoma, e desde que se consigam sequenciadores de DNA altamente eficientes e de baixo custo, ainda assim será difícil extrair das técnicas moleculares um padrão eletivo para o diagnóstico laboratorial da maioria dos tumores identificados até o presente. Essa constatação se deve ao fato que as mutações que ocorrem nos oncogenes e nos genes supressores são, muitas vezes, seriadas, ou seja, mutações em cima de mutações, o que pode resultar em mais de 100 genes mutantes num mesmo tumor, como se verifica, por exemplo, em câncer de pulmão (18,19).

Para entender as relações entre as interfaces citológica e molecular, os pesquisadores classificaram as mutações indutoras de tumor em três tipos: condutoras, epigenéticas e passageiras. As **mutações condutoras** são aquelas que estimulam diretamente a divisão celular, ou que paralisam o desenvolvimento de linhagens celulares, ou então que inibem a apoptose. Cada uma dessas situações é passível de alterar o comportamento das células, tornando-as mutantes e com capacidade de iniciar a formação

da massa tumoral. Essas mutações conhecidas por "condutoras" ou "mut-drivers" foram identificadas em 54 oncogenes e 71 genes supressores, entre eles os oncogenes RAS e MYC, e os genes supressores P53, BRCA1, BRCA2 e Rb1. A diversidade desses genes condutores é de tal ordem que modifica as trajetórias de sinalização celular em um mesmo tipo de câncer, por exemplo o câncer de bexiga. Numa pessoa com esse tipo de câncer, por exemplo, a sinalização de RAS pode estar ativada, enquanto que em outra pessoa com o mesmo padrão histológico de câncer de bexiga as alterações podem ocorrer na sinalização de MEK, e numa terceira pessoa também com o câncer de bexiga é a sinalização de ERK que está ativada. Mas, em cada caso, alguma peça vital da cascata de sinalização RAS-MEK-ERK certamente estará desregulada (4,12).

As **mutações epigenéticas** são aquelas influenciadas pelo meio ambiente (por exemplo: contaminantes de poluição, vírus, raios UV, etc.) e hábitos pessoais (por exemplo: ácido carbólico do fumo, dietas ricas em nitrosaminas e gorduras trans, estresse crônico, etc.). Os quase 200 genes que se acredita estarem afetados por essas mutações ainda não foram adequadamente identificados, uma vez que os componentes químicos, físicos, moleculares ou atômicos, adquiridos do meio ambiente ou de hábitos pessoais, desestruturam de diversas formas as moléculas de histonas, expondo o DNA a lesões químicas, físicas, ou a inserções retrovirais, fatos que desregulam qualitativa e quantitativamente as suas atividades (2,6).

Por fim, as **mutações passageiras** são aquelas que ocorrem por acidentes durante as várias etapas da cópia do DNA e, até o presente, não se observou nenhum impacto na biologia do câncer (18).

Pelas razões apresentadas até o momento conclui-se que a maioria dos tumores decorre de sequências de mutações que acontecem ao longo da vida, alterando sistematicamente os mecanismos de sinalização biológica. É possível admitir que numa mesma pessoa com um determinado tipo de câncer tenha ocorrido uma ou mais mutações condutoras e que foram potencializadas por uma ou mais mutações epigenéticas. Resultantes desses fenômenos moleculares, originam-se cascatas aberrantes de sinalizações celulares que aceleram suas divisões, recrutam novos vasos sanguíneos e estimulam a

motilidade celular para, enfim, causarem metástases (2).

A figura 6 mostra os eventos da interface celular e molecular num mesmo grupo de células.

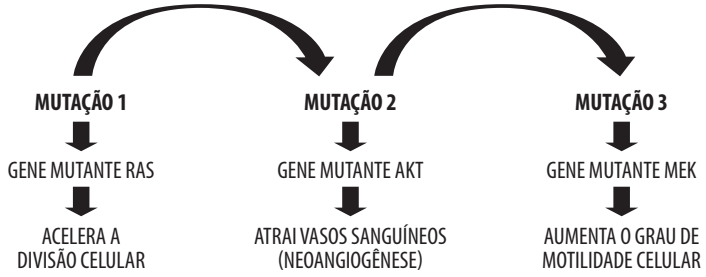


Figura 6
Eventos sequenciais de mutações em um mesmo tipo celular, por exemplo, células da mama, com diversas sequências fisiopatológicas.

INTERFACE IMUNOLÓGICA

As inúmeras possibilidades de erros na sinalização celular e na evolução dos eventos moleculares, que podem ocorrer entre milhões de células pertencentes a um universo de cerca de 100 trilhões, fazem com que ocorram mutações continuamente em nossas células. Sabe-se que a imensa maioria dessas mutações não progride devido aos mecanismos biológicos de reparos das lesões sofridas pelo DNA, ou da indução da sinalização que acelera a morte das células transformadas, ou, ainda, da sua eliminação por meio das células imunológicas. Entretanto, quando acontecem falhas num desses sistemas de eliminação de células mutantes, elas evoluem para formarem o tumor primário. Nesse contexto as células tumorais se alteram qualitativamente e quantitativamente, desrespeitando todos os sinais biológicos de equilíbrio celular que são necessários para que suas inserções ocorram adequadamente no tecido. Esse crescimento desordenado tem

características inflamatórias, atraindo muitos componentes imunológicos necessários para controlar o foco inflamatório. É importante destacar, ainda, que a despeito das falhas biológicas há fatores externos ao ambiente celular que atuam como "promotores de tumores". Esses fatores facilitam a progressão da massa inflamatória tumoral e enganam o sistema imunológico, como será apresentado adiante (5,15,18).

Estudos epidemiológicos revelaram que 1/3 dos tumores malignos progridem por alterações químicas das histonas induzidas por fatores promotores de tumor. Esses fatores desregulam as atividades dos genes, aumentando ou diminuindo as sínteses de seus produtos, por exemplo, os sinalizadores celulares. É importante relatar que entre esses fatores, também conhecidos por fatores epigenéticos, 35% são provenientes de substâncias degradadas de dietas inadequadas (por exemplo: excesso de nitrosaminas e gordura trans), 30% do acúmulo orgânico do ácido carbólico que compõe o fumo, 14 a 20% das consequências advindas da obesidade, 18% das interferências moleculares causadas por retrovírus (por exemplo: HIV, HTLV-1, HCV, HBV, etc.), e 7% das radiações UV ou das substâncias poluentes (por exemplo: benzeno, óxidos de enxofre e nitrogênio, asbesto, etc.) (23).

A inflamação tumoral, por sua vez, atrai vários tipos de células, com destaques para células dendríticas, macrófagos, linfócitos CD4, CD8 e B, granulócitos e células CD45, entre outras. Essa atração é motivada principalmente por interleucinas liberadas pelas células tumorais, dentre as quais se destacam as linfopoietinas do estroma tumoral (ou TSLP). Nesse ambiente de intenso estresse físico-químico, as células dendríticas iniciam a reação anti-inflamatória com a liberação de moléculas conhecidas por OX40L que estimulam os linfócitos CD4 a liberarem interleucinas 4 e 13 (ou IL-4 e IL-13). A IL-4 ativa macrófagos para atacarem as células tumorais, enquanto que a IL-13 estimula a formação de novos vasos sanguíneos, provavelmente para permitirem o acesso de mais células imunológicas e de plaquetas. Especificamente, as plaquetas são atraídas para a região inflamada para evitar sangramentos vasculares causados por rompimentos de vasos devido ao crescimento desordenado da massa tumoral. Também,

fibroblastos, células endoteliais e fatores de coagulação são ativados para restaurarem as lesões vasculares, e como resultado de todo esse processo reativo há a elevação das proteínas que atuam na fase aguda das inflamações (19,25). O sucesso da regressão ou da progressão do tumor primário ficará por conta dos macrófagos, principalmente. Sabe-se que há dois tipos de macrófagos, classificados em M1 e M2, conforme sua atuação imunológica. Os macrófagos M1 são direcionados para impedirem a propagação das células tumorais e, para esse fim, induzem as células Th1(CD4-Th1) que ativam as células CD8 e NK a produzirem vários tipos de interleucinas, com destaques para a IL-1B, IL-12, IL-23 e TNF-alfa. Por outro lado, os macrófagos M2 tem apenas atuação regulatória das inflamações, ou seja, sem capacidade para eliminarem células tumorais. Esses macrófagos estimulam as células Th2 (CD4-Th2) que, por sua vez, ativam os linfócitos B a produzirem anticorpos específicos, que tem pouca repercussão na eliminação do foco inflamatório tumoral. Portanto, quando ocorre a inflamação aguda causada pela formação de um tumor primário, as células tumorais podem ser eliminadas se a atuação dos macrófagos M1 for eficiente. Por outro lado, quando a concentração de macrófagos M1 é insuficiente, o organismo recruta os macrófagos M2 para agirem contra as células tumorais. Mas esses macrófagos não têm capacidade para estimular as células citotóxicas CD8 e NK a atuarem na eliminação das células tumorais e, por essa razão, a massa tumoral se mantém em atividade (5,10,19).

Pesquisas realizadas com células tumorais de câncer de mama mostraram que os macrófagos, ao fagocitarem as células tumorais, liberam dois tipos de enzimas: a colagenase 1 e a gelatinase. A enzima colagenase 1 é também conhecida por matriz metalopeptidase-1 ou MMP-1, enquanto a gelatinase é também denominada por matriz metalopeptidase-2 ou MMP-2. Essas duas enzimas isoladas não tem nenhuma influência para o tumor, porém, ao reagirem com átomos de zinco que eventualmente possam estar livres na matriz extracelular do tecido inflamado por células tumorais, ocorrem reações entre os compostos de MMP-1 e MMP-2 com o zinco. Esses compostos, agora identificados por MMP-1+Zn e MMP -2+Zn, degradam o colágeno e a elastina do tecido inflamado (matriz

extracelular) e facilitam a expansão de ramificações de vasos sanguíneos em direção ao tumor, e esses fatos possibilitam o crescimento do tumor e a metástase. Atualmente, supõe-se que as MMP-1 e MMP-2 sejam sintetizadas pelos macrófagos M2, motivo pelo qual se prevê a necessidade de se qualificar seus correspondentes celulares no sangue, os monócitos (11,13).

O deslocamento das células tumorais através dos vasos sanguíneos é identificado por meio de uma nova entidade celular denominada **células tumorais circulantes** (9,14). Essas células se deslocam individualmente, ou então o fazem protegidas por plaquetas e macrófagos M2. Quando se deslocam individualmente podem sofrer ataques de células de defesa imunológica e, assim, são eliminadas. Mas quando se protegem por meio de uma "capa" formada por plaquetas ou por macrófagos M2, as células imunológicas não conseguem identifica-las como inimigas e, portanto, essa é uma estratégia biológica das células tumorais para promoverem a metástase com relativa facilidade. Recentemente algumas tecnologias foram apresentadas com o objetivo de identificarem células tumorais circulantes no sangue. Entre essas destacam-se duas técnicas que têm por base o uso de anticorpos monoclonais, mas que se diferem da forma como as células tumorais circulantes são reveladas. Uma dessas técnicas, identificada pela sigla iFISH, utiliza-se do método de hibridização *in situ* por imunofluorescência que, ao marcar alguns antígenos de membrana de células tumorais circulantes com anticorpos fluorescentes, identifica-as entre milhões de leucócitos da circulação sanguínea (28). A outra técnica utiliza-se de mecanismos de captura de células tumorais circulantes por meio do uso de placa de silício composta por várias camadas de grafeno. Cada uma dessas camadas é impregnada com anticorpos monoclonais específicos contra um ou mais tipos de células tumorais. A tecnologia de captura, por sua vez, utiliza-se de apenas um mililitro de sangue, e é capaz de identificar entre três a cinco células tumorais circulantes num universo de aproximadamente um bilhão de células sanguíneas (24). As duas tecnologias, notadamente a de captura, poderá ter reflexos aplicativos não somente na identificação preventiva de câncer, mas também na experimentação de drogas para combatê-lo.

Por todas essas razões, a interface imunológica se torna importante para entender os impactos biológicos causados por mutações celulares, para obter novas formas de monitorização das células tumorais e para pesquisar opções terapêuticas com anticorpos monoclonais para vários tipos de tumores.

INTERFACE TERAPÊUTICA

As diferentes formas de tratamento do câncer é uma escolha da equipe médica responsável pelo paciente e essa escolha é determinada por protocolos médicos específicos para esse fim. A complexidade da doença ainda está sendo desvendada à medida que a biologia celular e molecular, a imunologia e os fatores epigenéticos se tornem mais conhecidos. Assim, propõe-se continuamente novas estratégias terapêuticas contra o câncer, notadamente quando se consideram os tratamentos quimioterápicos e imunológicos. O que de fato se sabe é que a quimioterapia mata a maior parte das células tumorais, mas uma pequena população remanescente de células tronco tumorais, que se supõe ser mais intrinsicamente resistente à morte, se regenera e renova o crescimento do tumor, precipitando as recidivas que ocorrem após esse tipo de tratamento. Não obstante, a imunologia do câncer tem revelado surpresas inesperadas, pois embora seja uma aliada incontestável contra as células tumorais, recentes descobertas mostram que podem ocorrer situações de "corrupção biológica" do sistema imune, fazendo com que células imunológicas trabalhem a favor de células tumorais. Todo esse arsenal de informações aqui resumido nos mostra a incrível complexidade do microambiente tumoral (5,21,22).

Com base nos conhecimentos adquiridos de forma quase setorial, ou seja, clínica do paciente com câncer, comportamento da célula tumoral, tecnologias de estruturação química de medicamentos e especificidades moleculares de anticorpos monoclonais contra determinados alvos celulares, tem sido possível descobrir drogas cada vez mais exclusivas com objetivos de eliminar células tumorais, ou estagnar o seu desenvolvimento. Resultante de todo esse conjunto de informações, é possível determinar

nove formas de estratégias terapêuticas contra alvos celulares tumorais, que podem serem usadas conforme os critérios médicos adotados para cada tipo de câncer (16,18). A figura 7 mostra esquematicamente as regiões celulares de atuação das nove opções de estratégias terapêuticas.

CITOESPECIFICIDADES DAS AÇÕES DE DROGAS ANTI-TUMORAIS

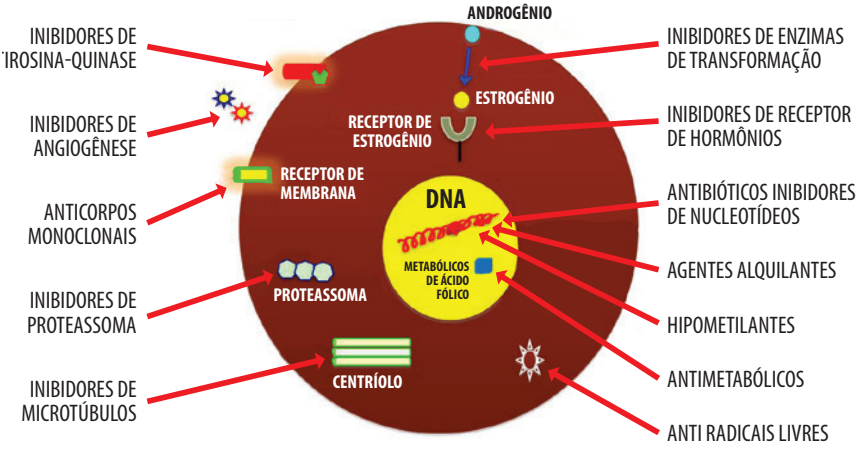


Figura 7
Nove formas de ataques terapêuticos à célula tumoral.

1. **Agentes alquilantes** – são drogas que alteram a estrutura do DNA das células tumorais por introduzir nela um radical alquil no lugar de um hidrogênio. O radical alquil se liga diretamente à molécula de DNA, modificando a sua estrutura e impedindo-a de se duplicar. Esse procedimento afeta as células em todas as fases do ciclo celular e é indicado para vários tipos de câncer. Quando o agente alquilante é associado com outra(s) droga(s) que atua(m) numa determinada fase do ciclo celular (por exemplo: fase G1), sua ação se torna mais efetiva. As principais drogas alquilantes

são: *mostarda nitrogenada, mostarda fenil-alanina, ciclofosfamida, busulfan, nitrosuréias, cisplatina, carboplatina e isofosfamida* (9,10).

2. **Antibioticoterapias específicas** – atuam em uma ou mais fases do ciclo celular, inibindo a síntese de DNA (por exemplo: *antraciclinas*). Sua reatividade na célula produz altas concentrações de radicais livres que provocam a morte de células tumorais e normais. A esses antibióticos podem ser adicionados outros compostos químicos, por exemplo grupos funcionais alquilantes, inibidores enzimáticos ou de síntese de DNA, tornando-os mais potentes em suas ações (5,10).

3. **Anticorpos monoclonais** – são produtos da mais recente tecnologia de drogas imunológicas com refinada especificidade para determinados tipos de tumores. Atuam principalmente contra receptores transmembrana, inibindo a recepção de indutores da sinalização celular, e também contra antígenos da superfície celular, no sentido de inibir a liberação de substâncias indutoras de tumores. Destacam-se entre essas drogas a *herceptina* ou *traztuzumab*®, que impedem a hiperexpressão do receptor HER-2, indutor de um dos tipos de câncer de mama; o *bevacizumab*®, que inibe o receptor o VEGF-A (Fator de Crescimento Epidermal e Vascular do tipo A), que estimula a angiogênese e é muito ativo no desenvolvimento de diversos tipos de câncer, por exemplo: colorretal, rim, pulmão, glioblastoma, ovário e mama; o *ipilimumab*®, que bloqueia os antígenos de membrana de linfócitos T a liberarem interleucinas que finalizariam a resposta imunológica, situação que ocorre frequentemente no melanoma; o *rituximabe*®, que neutraliza a ação do antígeno CD20 dos linfócitos B leucêmicos e linfomatosos a emitirem interleucinas que estimulam a produção descontrolada de linfócitos B (5,22).

4. **Antimetabólitos** – inibem com mais expressividade a síntese de DNA e RNA das células tumorais em relação às células normais. As drogas conhecidas por anti-folatos (por exemplo: *methotrexato*) são os melhores exemplos dos antimetabólitos, uma vez que os folatos fornecem os

principais componentes estruturais (as bases nitrogenadas) para o DNA e RNA. É importante destacar que os antimetabólitos são mais ativos contra as células que se encontram na fase S do ciclo celular (9,10,22).

5. **Inibidores de enzimas de transformação hormonal** – várias enzimas atuam como reguladoras de transferência de elétrons para moléculas que participam de diversas reações celulares, transformando-as, quer sejam para desencadearem divisões celulares ou para fornecerem produtos para o metabolismo celular. A enzima aromatase, por exemplo, atua como reguladora da transformação de andrógenos em estrógenos – hormônio importante para o metabolismo das células da glândula mamária. No tumor de mama, as células tumorais necessitam de altos níveis de estrógenos para sobreviverem e, dessa forma, a reação que transforma andrógenos em estrógenos é intensa e mediada pela enzima aromatase. O desenvolvimento de uma droga bloqueadora da aromatase, o *aromasin*, impede a divisão celular das células tumorais de mama que são dependentes de estrógenos, tornando-o controlável para outras ações terapêuticas necessárias (11,22).

6. **Inibidores de microtúbulos** – são drogas que interrompem as atividades de proteínas de estruturas tubulares que compõe algumas organelas celulares, por exemplo, os centríolos. Os centríolos tem a função de auxiliar a divisão celular pelo fato de "construírem" os fusos espirais pelos quais migram os cromossomos durante a mitose. O desenvolvimento de drogas que atuam na interrupção da formação desses fusos impede a divisão de células tumorais. As drogas mais utilizadas são extraídas de plantas, como a *Vinca rósea* (por exemplo: *vincristina*, *vimblastina* e *videsina*), usadas no tratamento de vários tipos de câncer e o *Teixo do Pacífico* (por exemplo: *cabazitaxel e paclitaxel*) usadas no tratamento de câncer de próstata, bem como nos de ovário, mama, sarcoma de Kaposi, pulmão, cérebro e garganta. Essas drogas são usadas notadamente quando esses tumores são refratários a tratamentos tradicionais (5,10).

7. **Inibidores de Proteossomas** – os proteossomas são unidades multienzimáticas que estão presentes no citoplasma e no núcleo das células (cerca de 30 mil unidades/célula). Em células normais os proteossomas regulam a expressão de proteínas e suas funções , por meio da degradação de proteínas ubiquitinadas (as ubiquitinas se ligam a proteínas anormais e são degradadas pelos proteossomas). Muitas dessas proteínas ubiquitinadas são pró-apoptóticas, ou seja, indutoras da morte celular. Em células tumorais essas proteínas ubiquitinadas são naturalmente anormais e, portanto, são destruídas pelos proteossomas, impedindo que ocorra a apoptose das células tumorais. Para evitar que os proteossomas degradem continuamente as proteínas ubiquitinadas anormais das células tumorais, desenvolveu-se uma droga específica para esse fim e que foi denominada por *bertozomida*. Dessa forma, a célula tumoral passa a induzir a sua apoptose. Essa droga tem sido usada no tratamento de mieloma múltiplo e no linfoma folicular não-Hodgkin(22,25).

8. **Inibidores de receptor hormonal** – são drogas que interferem na ligação de hormônios com os seus receptores específicos. O estrogênio, por exemplo, ao ser absorvido pelas células mamárias precisa de um receptor específico para desencadear suas atividades metabólicas. A droga elaborada para este fim foi o *tamoxifeno*, que bloqueia a recepção do estrogênio, impedindo que as células tumorais continuam a viver. Essa droga é usada em câncer de mama.

9. **Inibidores de tirosina-quinase** – são drogas que usam da bioengenharia celular para a sua confecção estrutural construída de acordo com o espaço molecular disponível para acomoda-la. Nesse sentido, bloqueiam as atividades de receptores do fator de crescimento epidermal mutado ou EGFR mutado. A mutação do EGFR-tirosina ativa a via anti -apoptótica da sinalização de RAS, impedindo a morte celular e tornando-a tumoral. Há várias drogas com especificidades diferentes que foram produzidas para o tratamento do câncer de pâncreas e pulmão (por exemplo: *gefitinib* ou *iressa*, *erlotinib* ou *traceva*), da leucemia

mielóide crônica e tumores gastrointestinais (por exemplo: *imatinib*), e para o câncer renal (por exemplo: *sonafenib*)(5,22).

A apresentação acima descrita é apenas uma sinopse das especificidades terapêuticas atualmente disponíveis, que são usadas conforme critérios médicos bem estabelecidos por protocolos terapêuticos para essa finalidade.

Outras drogas não quimioterápicas e não imunológicas também tem sido usadas a critério médico, entre as quais destacam-se a aspirina, BCG, talidomida, predinisona, e vitaminas C e D, bem como substâncias de extração vegetal, como são os casos de triterpenóides, curcumin e resveratrol, entre várias outras. Esses produtos têm interfaces citológica, molecular e imunológica em suas ações de cooperação terapêutica nas células tumorais (5,15,16).

Aspirina: o ácido acetíl salicílico tem alto potencial anti-inflamatório, inibindo a enzima COX2 (ciclo-oxigenase 2) cuja função é estimular a inflamação tumoral. Outra função da aspirina é evitar a agregação plaquetária, uma vez que as células tumorais circulantes se deixam envolver por plaquetas para escaparem da vigilância imunológica e, portanto, se tornam metastáticas. A aspirina tem a propriedade bioquímica de impedir a formação desse tipo de células tumorais circulantes protegidas por plaquetas .

BCG: a vacina BCG (Bacillus Calmette-Guérin) desencadeia uma variedade de respostas imunes, notadamente quando infundida diretamente no tumor. Seu uso tem sido eficiente na regressão de tumores de bexiga, mas o mecanismo antitumoral ainda é desconhecido.

Talidomida: atua reduzindo o nível TNF alfa (fator de necrose tumoral alfa). O TNF alfa é uma interleucina pró-inflamatória e, portanto, sua diminuição inibe a inflamação tumoral. É usada como medicação auxiliar em vários tipos de câncer.

Predinisona: é um corticoide anti-inflamatório e atua também como inibidor da inflamação tumoral.

Vitamina C: é um potente antioxidante contra radicais livres originados do metabolismo anormal das células tumorais, dos subprodutos da quimioterapia, e da desagregação atômica dos componentes celulares causadas pela radioterapia. Esses efeitos oxidantes também atingem as células normais, danificando-as .

Vitamina D: a maioria das informações disponíveis relata sua atuação na regulação da proliferação celular, mas não descreve o que ocorre de fato. A vitamina D é um composto lipossolúvel que se liga aos sais biliares e aos ácidos graxos ionizados, reduzindo a sua oferta para o metabolismo celular. Como se sabe, a membrana celular é ricamente composta por ácidos graxos e as células tumorais necessitam intensamente desses ácidos para sua formação. A diminuição da oferta de ácidos graxos, por estes estarem ligados à vitamina D, certamente prejudica a produção de células tumorais.

Triterpenóides: são saponinas do ácido quiálico que têm funções antioxidantes e indutoras de mecanismos de defesas imunológicas. São extraídas principalmente da maçã.

Curcumin: é um fito-nutriente obtido do açafrão da Índia e que tem ações antioxidantes (como a descrita para vitamina C) e é também anti-inflamatório.

Resveratrol: é um polifenol extraído de sementes de uvas tintas. Seus subprodutos digestivos atuam na regulação da divisão celular como inibidor da proteína NF-K beta, que é uma das indutoras de sinalização celular para divisão celular.

CONCLUSÃO

O aparecimento de células tumorais que podem progredir para o câncer está intimamente ligado ao genoma de cada pessoa. Os oncogenes surgem de mutações em genes essenciais que regulam todas as etapas da vida celular. Mutações seriadas vão se acumulando nesses genes quando suas moléculas de DNA sofrem a interferência do envelhecimento natural das pessoas, da contaminação crônica de substâncias carcinogênicas e das infecções de alguns tipos de vírus. Dessa forma, é possível concluir que os tumores têm uma linguagem própria e metódica, ou seja, os genes se comunicam com genes e as trajetórias de sinalizações são acionadas com um único objetivo, qual seja, tornar a célula tumoral onipresente no tecido em que ela foi gerada.

Por ser uma patologia de genes e trajetórias, o direcionamento dos estudos bioquímicos de sinalização celular, das identificações moleculares de falhas no funcionamento de genes e os conhecimentos dos segredos do nosso sistema imunológico, poderão contribuir para diagnósticos mais refinados e tratamentos cada vez mais específicos para os tipos de câncer mais prevalentes.

Por todas essas razões, é importante resgatar as conquistas históricas da redução das taxas de mortalidade por doenças como a malária, cólera, tifo e tuberculose, entre outras. Da mesma forma com que a humanidade aprendeu a se prevenir contra essas doenças, o caminho mais curto para que o câncer deixe de ser uma doença mortal e se torne apenas uma doença crônica e controlável é a sua detecção precoce, também conhecida como prevenção. Entretanto, diante de todo o conhecimento que atualmente se tem do câncer e chegar à conclusão de que ainda não tenha surgido algo que elimine eficazmente as células cancerosas em seus estágios mais avançados, nos estimula a rever e a repensar novas estratégias, ousadas e inteligentes, de combate ao câncer.

REFERÊNCIAS

1. Amy F, Arnsten A. – Stress signaling patways that impair prefrontal córtex structure and function. Nature Reviews Neuroscience. 10: 410-422, 2009.
2. Bird A. – Perceptions of epigenetics. Nature, 447: 396-398, 2007.
3. Collins F S. – A linguagem da vida. O DNA e a revolução na sua saúde. Gente Editora, São Paulo, 2010, 347 p.
4. Collins F S, Berker A D. – O mapa do genoma do câncer. Scientific American (Brasil), 30:30-39, 2011.
5. Coussens LM, Zitvogel L, Palucka AK. – Neutralizing tumor-Promoting chronic inflammation: a magic bullet? Science. 339: 286-291, 2013.
6. Cox C. Glyphosate. – Journal of Pesticide Reform. 24:10-15, 2004.
7. Kilpivaara O, Aaltonen LA. – Diagnostic cancer genome sequencing and contribution of germline variants. Science, 339: 1559-1562, 2013.
8. Lewis C E, Pollard J W. – Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Research, 66: 605-612, 2006.
9. Lucci A. – Circulate Tumor Cell. The lancet oncology. 06/06/2012. on-line.
10. McLeod HL. – Cancer pharmacogenomics: early promise, but concerted effort needed. Science. 339: 1563-1566, 2013.
11. Minn A J, Gupta G P, Siegel P M. – Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. Nature, 436: 518-524, 2005.
12. Murherjee S. – O imperador de todos os males. Companhia das Letras, São Paulo, 2010, 634 p.
13. Naoum PC, Naoum FA. – Cancer: porque eu? Editora All Print, São Paulo, 2012, 215p.
14. Plaks V, Koopman CD, Werb Z. – Circulating tumors cells. Science, 341: 1186-1188, 2013.
15. Pollard T D, Earnshaw W C. – Cell biology. Saunders-Elsevier Publishing, Philadelphia, 2008, 487 p.
16. Pongracz J, Keen M. – Medical Biotechnology. Churchil Livingstone. Elsevier Publishing, 2008, 193 p.
17. Shapiro R. – A simple origen of life. Scientific American, 296: 24-31, 2007
18. Smith M. – Translactional Research in Genetics and Genomics. Oxford University Press, 2008, 220p.
19. Suvà ML, Riggi N, Bernstein BE. – Epigenetic reprogramming in Cancer. Science, 339:1567-1570, 2013.
20. Varmus H. – The new era in cancer research. Science, 312: 1162-1165, 2006.
21. Visser K, Eichten A, Coussens L M. – Paradoxical roles of the immune system during cancer developments. Nature Reviews Cancer, 6:24-37, 2006

22. Vogelstein B, Kinzler K W. – Cancer genes and the pathways they control. Nature Medicine, 10: 789-799, 2004.

23. Volgestein B, Papadopoulos N, Velculescu VE. – Cancer genome Landscapes. Science, 339:1546-1558, 2013.

24. Yoon HJ, Kim TH, Zhang E. – Sensitive capture of circulating tumor Cells by functionalized grapheme nanosheets. Nature nanotechnology, 8: 735-741, 2013.

25. Weinberg RA. – The biology of cancer. Garland Science, Taylor & Francis Group, New York, 2007, 796p.

26. Weisz L, Oren M, Rotter V. – Transcription regulations by mutant P53. Oncogene, 26: 2201-2205, 2007.

27. www.inca.gov.br

28. www.webmd.com/cancer/fish-cancer-test

29. Zwane E.M.; Kromberg J.G.; Castle, D. – Albinism and skin cancer in Southern Africa. Clin Genet, 36: 43-52, 1989.

CAPÍTULO 2

SINALIZAÇÃO CELULAR DO CÂNCER HUMANO

Paulo Cesar Naoum

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença molecular e geneticamente organizada em que genes mutantes se comunicam com outros genes mutantes, produzindo diferentes trajetórias de sinalizações que se compõem e se completam. Como resultado dessa anormalidade paradoxalmente organizada, originam-se células com comportamentos biológicos diferentes dos das células normais. Entre esses comportamentos destacam-se seis alterações: *divisão celular acelerada* por impulso autônomo para a célula se dividir sem controle; *formação tumoral* por rejeições a sinais inibidores de crescimento celular em referência ao espaço ocupado; *morfologia celular anormal* devido à lentidão ou incapacidade da célula evoluir e se diferenciar; *neoangiogênese* causada por estímulos das células tumorais, que fazem as células endoteliais próximas ao tumor criarem novos vasos sanguíneos para seu próprio suprimento; *metástases* oriundas de células tumorais, originalmente imóveis, que adquirem condições de mobilidade; *antiapoptose* efetuada por células tumorais, que rejeitam sinais para morrerem e dar espaços para células normais recém produzidas[1, 2].

As pesquisas moleculares em câncer têm identificado os principais genes envolvidos com centenas de tumores, bem como suas trajetórias de sinalizações. Do que se dispõe até o presente, é possível concluir que determinados tipos de tumores primários e de neoplasias hematológicas possuem padrões biológicos e moleculares semelhantes, mas quando se transformam em células tumorais circulantes causadoras do câncer passam a ser exclusivos de cada pessoa, ou seja, suas células normais são

identicamente normais, enquanto que as células cancerosas se tornam diferentes cada uma à sua maneira. Essa é a razão pela qual se justifica o diagnóstico precoce de um tumor em seu estágio inicial que, por ter, em sua maioria, padrões biológicos e moleculares semelhantes, permite condutas terapêuticas mais favoráveis para tratá-lo[3]. Diante do exposto é possível considerar pelo menos três avaliações científicas e tecnológicas que poderiam tornar mais fáceis o entendimento da complexidade funcional das células tumorais. A primeira avaliação se suporta na identificação de mutações condutoras que afetam receptores e sinalizadores celulares, possibilitando a realização de diagnósticos precoces e o uso de terapias-alvos personalizadas para esses defeitos moleculares. A segunda avaliação, que ainda está em busca de um consenso, é a descoberta de proteínas, enzimas ou hormônios relacionados com a maioria de tumores primários, fatos que facilitariam a escolha adequada de marcadores tumorais para diagnósticos preventivos e o acompanhamento médico desses pacientes. E, finalmente, a terceira avaliação, que está sendo pesquisada por um grupo de laboratórios ingleses financiados pelo Projeto *Genomics England*, tem o objetivo de conhecer como ocorrem as transições de células normais para células tumorais[4, 5]. Busca-se, portanto, desvendar as trajetórias de sinalizações, quer sejam aquelas personalizadas para cada tipo de tumor ou aquelas que tenham trajetórias padrões que abrangem vários tipos de tumores. Pretende-se, enfim, com essas informações, ter maior efetividade na detecção precoce de tumores e de medidas preventivas para diminuir os riscos em desenvolver diversos tipos câncer, assim como a seleção de terapias mais específicas e menos agressivas.

Pelas razões acima expostas, o presente capítulo tem dois objetivos principais. O primeiro é apresentar uma sinopse dos progressos obtidos até o presente das principais trajetórias de sinalizações envolvidas com a origem de células tumorais. O segundo é propor modelos didáticos, notadamente por meio de figuras e esquemas, para que médicos, pesquisadores de tumores e professores possam interpretar os desencadeamentos químicos e moleculares de nove importantes vias de sinalização relacionadas com as origens de tumores.

CINÉTICA CELULAR

A cinética celular é determinada por ações simultâneas, ou sinérgicas, que dependem da estrutura celular. Cada célula, como se sabe, tem componentes químicos que formam as membranas citoplasmática e nuclear, os produtos e as organelas citoplasmáticas, os produtos nucleares e os cromossomos com suas complexas ações genéticas. A esse sinergismo funcional denomina-se por *metabolômica celular*.

A fisiologia da cinética celular está fundamentada em quatro sequências conhecidas por *estímulo indutor*, que para penetrar na célula se utiliza do seu *receptor específico de membrana*, que ativa uma ou mais proteínas, enzimas ou hormônios citoplasmáticos, desencadeando reações químicas conhecidas por *vias de sinalização*, onde os produtos modificados são conduzidos até o núcleo da célula para ativarem ou desativarem os genes que controlam as *fases do ciclo celular*[1, 4]. Segue-se um resumo de cada uma das quatro etapas acima apresentadas:

1. **estímulos indutores**[1, 6, 7] – os mais conhecidos são os seguintes:
   - Citocinas ou Interleucinas (IL), com destaque para IL-6 associada a vários tipos de tumores.
   - Fatores de crescimento, por exemplo, PDGF, TGF α/β, EGF, etc.
   - Vírus oncogênicos, por exemplo, HPV, HBV, HCV, HTLV-1, HIV, EBV, etc.
   - Bactérias, com destaque para *Helicobacter pylori*, relacionada com risco de desenvolver tumores gástricos
   - Hormônios, com destaque para o estrogênio relacionado com os tumores de mama.
   - Carcinógenos que causam os efeitos epigenéticos vinculados com a origem de diversos tipos de tumores.

2. **receptores de membrana**[1, 6, 7] – são extensamente classificados a partir do interesse de seus estudos. Geneticamente são classificados conforme suas sínteses em genes estruturais, oncogenes e genes supressores. Estruturalmente são diferenciados por sua localização na membrana em

receptor interno, externo ou transmembrana, bem como por estímulos químicos que os caracterizam como receptores tirosina quinase. Por fim, são relacionados de acordo com as especificidades de seus indutores, notadamente as citocinas, TNF, hormônios, vírus, carcinógenos, etc. Exemplificamos, a seguir, alguns tipos de receptores:

- Receptores transmembrana: GCPR (oncogene), TGFβR (gene supressor), HER-1,2, e 3(oncogene), Notch (oncogene), BMPRI/II (gene supressor), etc.
- Receptores tirosina-quinase: RTK (oncogene), etc.
- Receptores de citocina/interleucina (gene estrutural)
- Receptores do fator de necrose tumoral: TNFR (gene estrutural), etc.

3. **vias de sinalizações citoplasmática e nuclear**[4, 6, 7, 9] – são classificadas por meio de produtos proteicos e enzimáticos sintetizados por genes estruturais, oncogenes e genes supressores. Alguns tipos de hormônios também participam das vias de sinalizações. Os genes estruturais não têm influência direta na origem de células tumorais, mas podem sofrer mutações exclusivas no tumor de uma pessoa, que são conhecidas por mutações passageiras. A sinalização citoplasmática, por sua vez, é composta por maior concentração de proteínas e enzimas sintetizadas por oncogenes (42 produtos) em relação àquelas produzidas por genes supressores (22 produtos), enquanto que na sinalização nuclear há um equilíbrio entre proteínas e enzimas sintetizadas por oncogenes (16 produtos) e por genes supressores (14 produtos). Esse equilíbrio nuclear entre oncogenes e supressores mostra que o núcleo é a principal barreira seletiva contra o surgimento de células tumorais. Por outro lado, as proteínas e enzimas produzidas por genes estruturais predominam no citoplasma (163 produtos) e no núcleo (25 produtos). Há, portanto, contabilizados até o presente, 282 produtos diferentes, dos quais 227 são proteínas e enzimas que atuam no citoplasma, e 55 que atuam no núcleo. Esses produtos são, portanto, sintetizados por um mínimo de 282 genes[1, 7]. Essa diversidade de proteínas e enzimas pode se expressar de forma unitária, por exemplo, mutação na proteína supressora P53, ou de forma múltipla que pode alcançar até uma centena de genes mutantes com suas respectivas proteínas e enzimas

mutantes agindo em tumores metastáticos de uma mesma pessoa[3]. Quando ocorrem situações com multiplicidades de mutações que afetam as sinalizações de diversas proteínas e enzimas justifica-se o conceito de que *"o câncer é uma doença exclusiva de cada pessoa"*[8]. Por conta dessa exclusividade é possível observar diferentes trajetórias de sinalização a partir de um tumor primário em que vários marcadores moleculares e citogenéticos possam estar alterados.

4. **ciclo celular**[4, 10, 11] – é composto por seis fases sequenciais, identificadas por G_0, G_1, *S*, G_2, *M* e *Citocinese*.
   - Na fase $\boldsymbol{G_0}$ ***(Growth=crescimento)*** são sintetizadas proteínas diferenciadas para tecidos específicos. Nessa fase a ação dos genes supressores é importante para eliminar as sinalizações anormais capazes de produzirem células mutantes.
   - Na fase $\boldsymbol{G_1}$ a célula cresce em volume e, por isso, é muito susceptível aos produtos ambientais carcinogênicos (veja as lesões na fase *S*), fato que ocorrerá também nas fases seguintes. A partir dessa fase os genes de reparo de DNA são mais efetivos para evitar os efeitos epigenéticos.
   - Na fase ***S (Síntese)*** ocorre a síntese de moléculas de DNA com importantes participações de folatos e vitamina B12 como fornecedores de produtos para comporem as bases nitrogenadas. Decorrente da síntese de DNA os cromossomos se duplicam. Algumas lesões por produtos ambientais carcinogênicos (efeitos epigenéticos) podem decompor histonas e telômeros dos cromossomos. Ambas decomposições não causam mutações no DNA, mas expõem segmentos da molécula de DNA, de um ou mais genes, às interferências químicas dos radicais livres, por exemplo, que podem alterar as regiões controladoras de genes, tornando-os mais lentos ou incapazes de executarem suas funções.
   - Na fase $\boldsymbol{G_2}$ a célula se prepara para a divisão celular, uma vez que as duplicações dos cromossomos e organelas já foram concluídas. Mutações nesta fase ou em fases anteriores, que venceram as barreiras de proteção feitas por proteínas e enzimas supressoras de tumores ou daquelas que efetuam o reparo de DNA mutante, provocam alterações

morfológicas e funcionais nas células.

- A fase ***M (Mitose)*** é mais complexa, com várias etapas de evolução celular composta por uma sequência de eventos citocinéticos passíveis de provocarem a quebra de cromossomos. Nesses tipos de lesões é possível que um oncogene se torne livre de seu gene supressor e passe a desorganizar as ações celulares relacionadas com divisão celular, diferenciação celular, mobilidade celular e morte celular. Porém, há casos em que as quebras cromossômicas ocorrem em multiplicidade durante as diferentes fases da mitose, induzindo vários oncogenes a atuarem concomitantemente, fato que resulta em hipermutações, muitas das quais tumorais, e que têm mais de uma via de sinalização alterada. O resultado citogenético de múltiplas quebras cromossomicas é conhecido por *cromoplexia*[4, 9].
- A fase ***Citocinese*** é a conclusão da divisão celular, com destaque para seus efeitos de inserção tecidual e mobilidade. Mutações que afetam as comunicações biológicas entre as células filhas e suas respectivas células tronco desencadeiam descontroles nas induções para suas divisões, diferenciações e mobilidades celulares, fatos que caracterizam as células tumorais com capacidades metastáticas.

SINALIZAÇÃO CELULAR[1, 3, 4, 7, 10, 11, 12]

A sinalização celular normal é um sistema que envolve provavelmente entre 800 a 1000 proteínas e enzimas, alguns hormônios e um complexo sistema de interação imunológica. Esses conjuntos de informações atuam nas sinalizações internas e nas comunicações intercelulares, estimulando os quatro processos da evolução celular: divisão, diferenciação, mobilidade e morte celular. Os estímulos que induzem as atividades das células podem ser apresentados por meio de conceitos clássicos de sinalização celular, que são apresentados a seguir:

Sinalização autócrina: a própria célula emite sinais que vão estimular

os quatro processos de evolução celular. Um exemplo relacionado com origem de tumor com este tipo de sinalização se refere ao fator de crescimento epidermal (EGF), que quando mutante promove a autoindução da célula para se dividir sem controle.

Sinalização parácrina: ocorre entre células vizinhas de uma mesma linhagem onde uma célula estimula outra, por exemplo, a emissão de sinais por meio de citocinas ou interleucinas de células recém-divididas para "avisar" as células tronco ou células mãe a cessarem estímulos de divisão celular.

Sinalização justácrina: comunicação direta de sinais entre células diferentes. Um exemplo recentemente demonstrado se refere à modulação imunológica dos macrófagos contra focos de células tumorais. Inicialmente os macrófagos fagocitam células tumorais e emitem sinais químicos (interleucinas específicas) que estimulam linfócitos citotóxicos a atacarem seletivamente as células tumorais. Após eliminar o foco tumoral, os linfócitos citotóxicos comunicam aos macrófagos que o "serviço foi realizado" e desta feita estas células cessam as ações e se voltam para outras funções imunológicas. Essa sinalização ocorre por meio de uma "ponte química" – o receptor CTLA-4 (Antígeno 4 do Linfócito T Citotóxico) – que liga o linfócito citotóxico ao macrófago, através da qual se transmitem os sinais químicos de uma célula para outra.

Sinalização endócrina: células produzidas numa determinada glândula emitem sinais que são transmitidos para células de diferentes órgãos ou glândulas. Um exemplo relacionado com este tipo de sinalização é o tumor primário de mama. Cerca de 80% de mulheres que desenvolvem tumor de mama têm suas células tumorais estimuladas pelo estrogênio, um hormônio produzido pelas células foliculares do ovário. Assim, a avidez da célula tumoral em usar o estrogênio a faz consumi-lo muito mais rápido que as células normais, tornando-as numericamente maior para formar o tumor. A figura 1 mostra as quatro formas de sinalizações inter e intracelulares.

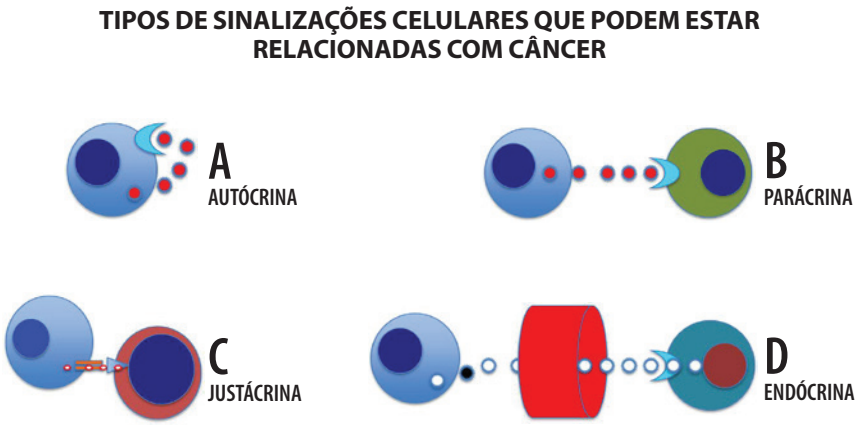


Figura 1
Esquematização das quatro formas básicas de sinalizações inter e intracelulares.

VIAS DE SINALIZAÇÃO CELULAR RELACIONADAS A TUMORES[4, 7, 9, 13]

Diante do intrincado modelo celular proposto por extensa literatura científica, os pesquisadores em sinalização celular construíram vários circuitos de reações químicas que foram denominados de *vias de sinalização celular*. Entre as muitas propostas para esse tipo de análise interpretativa das reações celulares destacam-se nove vias de sinalizações associadas a tumores. Nesse contexto, apresentaremos para cada uma dessas vias o seu significado, funções normais, tumores mais comuns provenientes de disfunções, além de figuras e esquemas que resumem as cascatas químicas de sua sinalização. As nove vias de sinalização celular a serem expostas neste artigo são as seguintes: Ras, GCPR, TGF-β, EGFR, Wnt, NF-kB, Notch, Akt e Hedgehog.

A figura 2 identifica de forma aleatória essas nove vias de sinalização, destacando para cada uma delas seus principais receptores de membrana,

diferenciados por suas formas de ações (condutoras, oncogênicas ou supressoras) e pelas estruturas de suas inserções na membrana (receptores externos, internos e transmembrana).

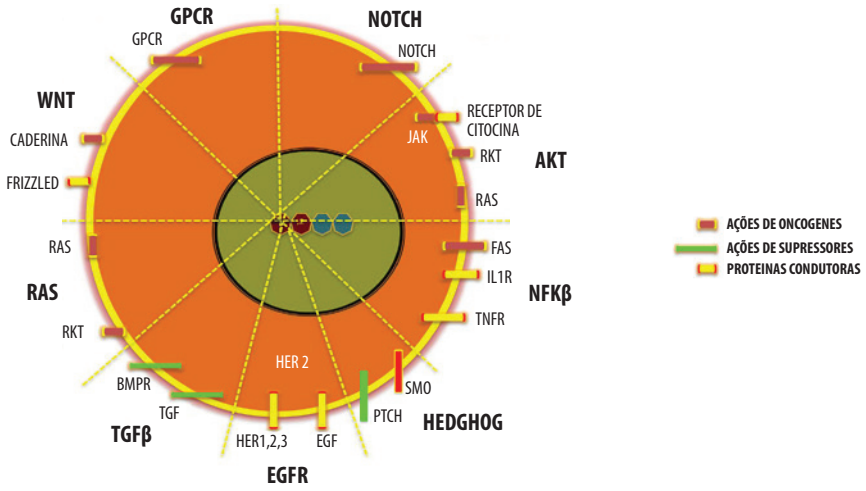


Figura 2
Representação esquemática e resumida das nove vias de sinalização celular com destaques para seus principais receptores celulares.

1. SINALIZAÇÃO DE RAS[4, 7, 13, 14]

Significado - A sigla Ras em inglês foi extraída das letras de **Ra**ts sarcome, após a descoberta, em 1960, por Jeniffer Harvey, de um grupo de proteínas estimuladoras de tumores em ratos.

Função normal - A sinalização de Ras é composta por várias proteínas homólogas denominadas por H-Ras, K-Ras, N-Ras, etc., que são sintetizadas por um agrupamento de genes com funções de oncogenes e que são denominados respectivamente por H-Ras, K-Ras, N-Ras, etc. As proteínas

Ras atuam como interruptores moleculares das rotas de transmissão de sinais biológicos da sua própria via (Sinalização de Ras) e de outras vias (GCPR, Wnt, AKT e TGFβ), controlando a ativação ou desativação da transcrição e translação do RNAm, do trânsito de indutores através da membrana citoplasmática, bem como da divisão, mobilidade e apoptose celular. A figura 3 resume todo esse processo num esquema de reações que ocorrem na sinalização de Ras.

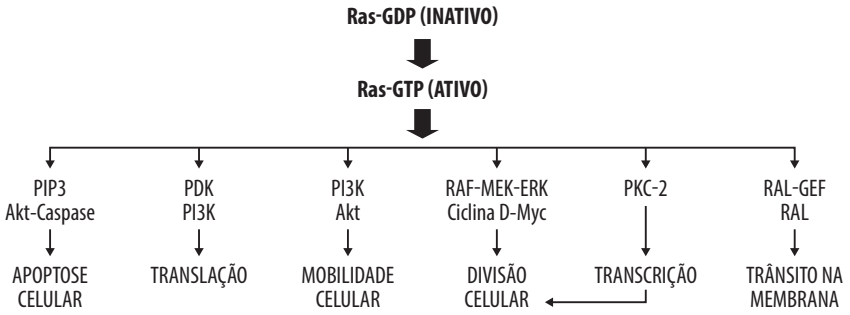


Figura 3
Esquema representativo de algumas reações sinalizadoras de Ras-GTP como complexo proteico efetor que promovem várias funções celulares.

Destaque - As proteínas Ras, normal ou mutante, estão dentro das células (região interna da membrana, citoplasma e núcleo), o que as torna inacessíveis às drogas que não conseguem atravessar a membrana celular. Não há, portanto, até o presente, drogas-alvo para a sinalização de Ras. A importância em avaliar Ras e suas mutações é obter condições de prognósticos mais precisos para os pacientes com câncer e avaliar o uso de terapias específicas, por exemplo, medicamentos inibidores de tirosina-quinases dos receptores RTK e EGFR, que bloqueiam a sinalização de Ras.

Principais tumores associados - Cerca de 30% dos tumores malignos estão associados com a via de sinalização de Ras, com destaque para os seguintes tumores: pâncreas, colorretal, bexiga, mama, ovário, gástrico, pulmão e melanoma, principalmente. Destaca-se que 90% dos tumores de pâncreas estão associados a mutações de Ras.

Sinalização apoptótica de Ras normal - A proteína Ras está normalmente ligada à molécula de GDP (guanosina di-fosfato) e nesta situação a composição estrutural passa a ser **Ras-GDP**, que mantém a sinalização inativada. Quando induzida, a molécula de GDP sofre alterações químicas que a transformam em GTP (guanosina tri-fosfato) e a composição passa a ter a estrutura de **Ras-GTP**, que se torna ativada e estimula vários outros compostos químicos que participam de sinalizações específicas da fase G (G_0, G_1 e G_2) do ciclo celular, principalmente.

A cascata de reação pode ser resumida da seguinte forma:

Ras Normal ➡ p110 ➡ PIP3 ➡ Akt ➡ Caspase ➡ Apoptose

Sinalização apoptótica de Ras mutante - Dependendo do tipo mutação de Ras o bloqueio à indução da apoptose pode ser parcial ou total. No bloqueio parcial a apoptose ocorre, mas com menor intensidade, dando condições para formar o tumor primário de forma lenta. No bloqueio total a apoptose não ocorre e a formação do tumor primário tende a ser rápida.

a) Ras Mutante (bloqueio parcial de estímulo da apoptose) ➡ p110 ➡ PIP3 ➡ Akt ➡ Caspase ➡ Apoptose diminuida ⬇ **Formação lenta de tumor**

b) Ras Mutante (bloqueio total de estímulo da apoptose) ⊘ Não há apoptose ➡ **Tendência a formação rápida de tumor**

Sinalização normal de Ras para divisão celular: este tipo de sinalização é parácrina, em que as células formadas a partir de uma célula tronco enviam citocinas (ou interleucinas) para que a estimulação da divisão celular seja interrompida, controlando, assim a divisão celular.

Sinalização anormal de Ras mutante para divisão celular: ocorre por meio de mutações que amplificam as ações sinalizadoras de Ras para divisões celulares, ou por mutações estruturais que não sintetizam citocinas que regulariam a sinalização de Ras. Mutações amplificadoras e estruturais de Ras podem estar relacionadas com tumores de rápido crescimento e metástases. O esquema abaixo mostra a sequência da formação de tumor quando há amplificação de Ras.

Sinalização anormal de Ras mutante em outras ações celulares: Conforme está representado na figura 3, a sinalização de Ras participa de diversas ações celulares. Quando a mutação ocorre na estrutura molecular de Ras, uma ou mais dessas ações se tornam prejudicadas. Foram esquematizadas acima apenas as alterações de Ras para apoptose e divisão celular, entretanto, conforme o tipo de mutação de Ras, outras ações, como as de *translação* (quando as tríplices bases nitrogenadas são traduzidas em polipeptídeos nos ribossomos), *transcrição* (quando o RNAm é sintetizado a partir da cópia do DNA), *trânsito na membrana* (a sinalização da cascata de Ras a partir do receptor Ras inserido na membrana) e *mobilidade celular* (citocinese), podem se tornar anormais de forma individual ou conjunta.

Conclui-se, portanto, que a complexidade do crescimento tumoral induzido por mutações Ras contribui para o entendimento de que determinados tipos de câncer são exclusivos de cada portador da doença. A figura 4 representa de forma esquemática parte das reações de Ras durante a sinalização de GCPR.

2. SINALIZAÇÃO DE GCPR [4, 7, 13, 15]

Significado: GCPR é uma sigla em inglês que significa **R**eceptores **C**ompostos por **P**roteínas **G** (**G**AP, **G**FR, **G**RP, **G**EF).

Função normal: A sinalização desse complexo proteico é uma das mais abrangentes, por envolver cerca de 800 genes diferentes. Sua indução é desencadeada por um indutor ou ligante, por exemplo, interleucinas, hormônios, produtos carcinogênicos, etc., que ativam enzimas citoplasmáticas (GTP) para se ligarem com Ras (Ras-GTP) estimulando as diferentes atividades celulares que estão representadas na figura 3.

Destaque: Os receptores GCPR são do tipo transmembrana, sintetizados por oncogenes e compostos por subunidades moleculares identificadas por GDPα, GDPβ e GDPγ. Por serem receptores estruturalmente grandes e do tipo transmembrana, os mesmos são alvos de 40% de todos os medicamentos modernos, notadamente os anticorpos monoclonais específicos, que bloqueiam os acessos de indutores que estimulariam as sinalizações tumorais.

Principais tumores associados: Ovário, tireoide, colorretal, sarcoma de Kaposi, próstata, gastrointestinal, entre outros.

Sinalização normal de GCPR: A figura 4 mostra em quatro sequências a sinalização normal de GCPR com a ativação de Ras-GTP.

Sinalização anormal de GCPR: Há duas possibilidades bem demonstradas

cientificamente. A primeira se deve ao excesso de indutores, também conhecidos por *ligantes*, que aumentaria o grau de sinalização para divisões celulares.

A segunda se deve à mutação amplificadora no oncogene GCPR, que resulta no aumento da quantidade de receptores GCPR possibilitando a introdução contínua de indutores para dentro da célula, sinalizando-a descontroladamente para divisões celulares.

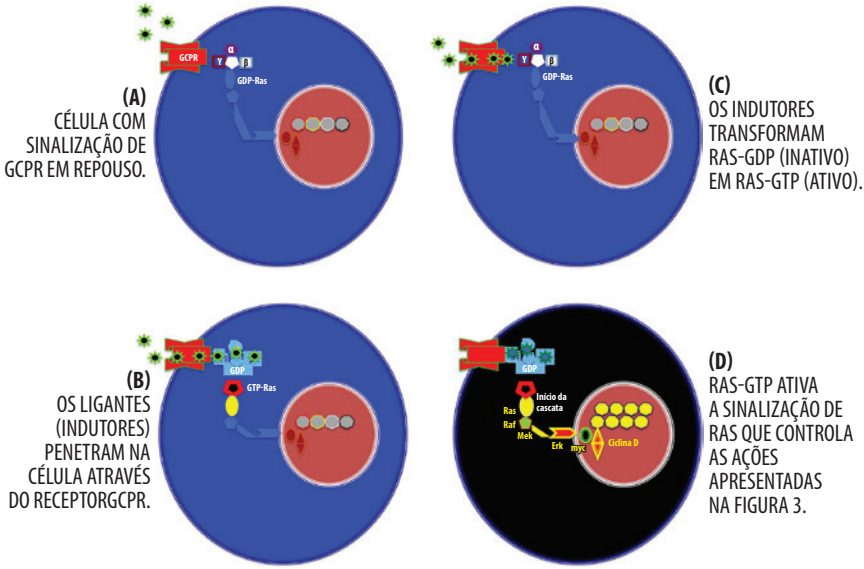


Figura 4
Representações esquemáticas e resumidas das sinalizações de GCPR e de Ras.

3. SINALIZAÇÃO DE TGF-BETA[4, 7, 13, 15, 17]

Significado: TGF-Beta é uma sigla em inglês que significa **F**ator **T**ransformador do **C**rescimento – **Beta**.

Função Normal: Controla a divisão e a diferenciação celular na fase G_1 do ciclo celular, bem como a apoptose desde a fase evolutiva da embriogênese. Na fase G_1, inclusive, o TGF-β pode inibir a sequência do ciclo celular por meio da ativação da proteína supressora *SMAD*, que bloqueia a transcrição de genes importantes para a vida celular e a célula morre (apoptose celular). Por outro lado atua também no estímulo do ciclo celular por meio da ativação de *Ras*, que induz a divisão celular.

Destaque: O TGF-β é uma citocina secretada por macrófagos e se liga aos receptores transmembrana BMP RI, BMP RII, TGF-β RI e TGF-β RII, todos com estruturas tetraméricas, conforme mostra o esquema da figura 5.
Situações de anormalidades funcionais podem ocorrer quando há diminuição da liberação da citocina TGF-β pelos macrófagos, por exemplo na baixa imunidade, ou por mutações nos receptores BMP RI, BMP RII, TGF-β RI e TGF-β RII.

Tumores associados: Colorretal (75% desses tumores ocorrem por alterações dessa via), pâncreas e trato gastro-intestinal, entre outros.

Sinalização normal: O controle normal da entrada de TGF-β na célula, efetuado pelo complexo proteico SARA/SMAD, permite que a via de sinalização de *Ras* atue de forma regulada na indução da proteína MAD-MAX a desencadear a apoptose celular (figura 5-a).

Sinalização anormal: A diminuição de TGF-β devido à baixa imunidade exerce um efeito anti-apoptótico da célula. Entretanto, sinalizações anormais por excesso de TGF-β (figura 5-b) podem paradoxalmente bloquear a apoptose. Outra forma de sinalização anormal se deve a mutações nos

receptores de TGF-β RI/RII (figura 5-c), que estimulam continuamente a sinalização de Ras para a divisão celular. Essas são as principais causas da origem dos tumores acima mencionados.

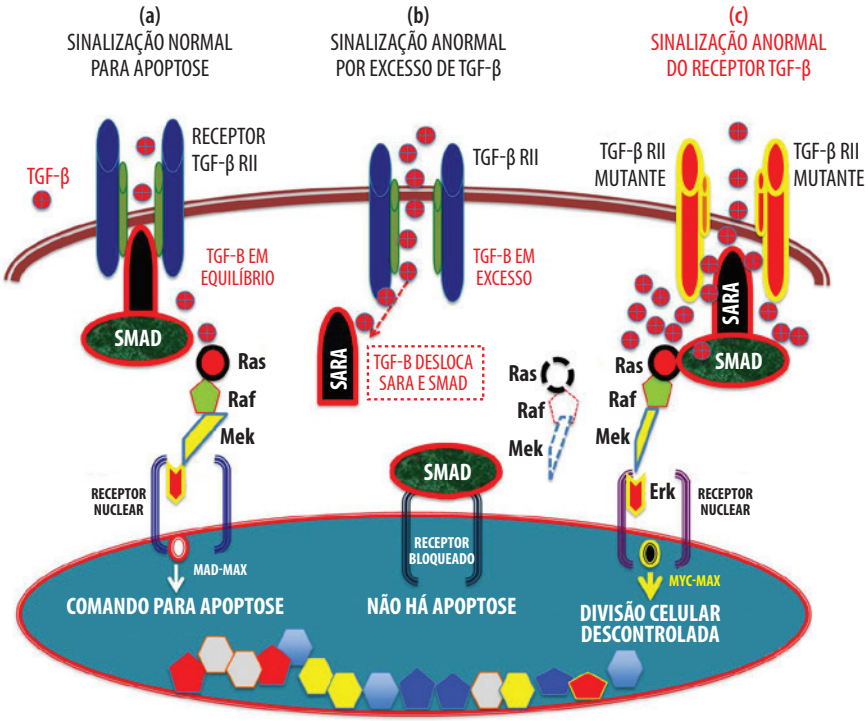


Figura 5
Representação esquemática e resumida da sinalização de TGF-β.

(a) Sinalização normal para apoptose ocorre quando o complexo proteico *SARA-SMAD* bloqueia a entrada de citocinas TGF-β, permitindo que a sinalização de *Ras* efetue normalmente a apoptose celular por meio da ativação do complexo MAD-MAX. É importante destacar que há um controle celular que equilibra a entrada de citocinas TGF-β para executar outras sinalizações normais.

(b) Sinalização anormal de TGF-β por excesso de oferta de citocinas TGF-β por macrófagos (por exemplo, inflamações crônicas pré-cancerosas). Este excesso de citocinas desloca o complexo proteico *SARA-SMAD* que bloqueava o receptor TGF-β RI/RII. A proteína SARA se dilui no citoplasma enquanto que *SMAD* se fosforila e se desloca para bloquear o receptor de membrana nuclear, impedindo, assim, a efetividade da cascata de Ras para a apoptose.

(c) Sinalização anormal de TGF-β por mutações estruturais dos receptores TGF-β RI/RII (ou BMP RI/RII) permite a entrada incontrolável de citocinas TGF-β para dentro da célula, ativando continuamente a divisão celular por meio da cascata de Ras por meio do complexo MYC-MAX.

4. SINALIZAÇÃO DE GFS COM DESTAQUE PARA EGFR [4, 6, 7, 13, 18]

Significado: A sigla em inglês **GFs** significa Fatores de crescimento, e a sigla **EGFR** significa receptor de fator de crescimento epidermal.

Função normal: Esta é uma sinalização de alta complexidade, composta por nove estruturas diferentes que controlam a divisão e a diferenciação celular, conforme mostra a tabela 1. Especificamente, a sinalização de EGFR ocorre por meio de diferentes receptores transmembrana ligados à tirosina quinase que têm estruturas monoméricas (VEGFR, IGFR e GAS6), diméricas formadas por homodímeros (EGFR-EGFR, Her2-Her2, Her3-Her3) e diméricas formadas por heterodímeros (EGFR-Her3, Her-2-Her3, Met-Her3), conforme mostra a figura 6.

Destaque: A anormalidade mais conhecida da sinalização de EGFR se deve à amplificação ou hiperexpressão da síntese do receptor Her2 que resulta em muitos receptores de Her2-Her-2 ou Her2-Her3 na composição da membrana citoplasmática. O aumento do número desses receptores faz com que mais indutores e ligantes tenham acesso para o interior das células afetadas, desencadeando contínuas sinalizações de EGFR (figura 6).

Tumores associados: Cerca de 30% dos tumores de mama estão associados à hiperexpressão de Her2 (Her2-Her2 e Her2-Her3), além de diferentes tumores causados por anormalidades de outros receptores do grupo de GFs: mieloma múltiplo, pulmão (não-pequenas células), cabeça e pescoço, estômago, colorretal, esôfago, próstata, bexiga, renal, pâncreas, ovário, glioblastoma, células escamosas, leucemia mielóide aguda, tumor estromal gastrointestinal, tireoide papilar e múltiplas neoplasias endócrinas.

Sinalização normal: Depende do equilíbrio entre os fatores de crescimento (GFs) e seus respectivos receptores de membrana citoplasmática, conforme esquema proposto nas figuras 6-a e 6-b.

Sinalização anormal: Ocorre quando há desequilíbrio entre os fatores de crescimento e seus respectivos receptores de membrana citoplasmática. As causas mais comuns de sinalização anormal acontecem por excesso de ligantes (fatores de crescimento, interleucinas, hormônios e proteínas específicas) ou por mutações que amplificam a síntese do receptor Her2 (figura 6-c). As duas principais cascatas de reações que são afetadas na sinalização de EGFR são as de Akt e Ras. O excesso de indutores ou ligantes do receptor EGFR causa a sinalização descontrolada de Ras, que estimula a divisão celular, mas também afeta a diferenciação, a adesão, a migração e a apoptose celular. Por outro lado, a amplificação de Her2, notadamente do heterodímero Her2-Her3, estimula a sinalização de Akt que bloqueia a apoptose celular. A figura 6-d exemplifica esses eventos anormais.

Tabela 1: Fatores de crescimento (GFs) relacionados com seus receptores específicos, tirosina quinase, que desencadeiam as reações de sinalizações, com destaque para EGF e EGF-R. Desequilíbrios entre GFs e receptores podem dar origem a tumores relacionados com as células estimuladas pela sinalização.

Nome do GF	Receptor	Células estimuladas pela sinalização
PDGF*	PGDFR	endoteliais, fibroblastos, gliais, musculares lisa e outras células mesenquimais
EGF**	EGFR	muitos tipos de células epiteliais e algumas células mesenquimais
NGF	Trk	neurônios
FGF***	FGFR	endoteliais, fibroblastos e neuroectodermais, musculares lisa e outras células mesenquimais
HGF/SF	Met	várias células epiteliais
VEGF	VEGFR	endoteliais dos capilares e dutos linfáticos
IGF	IGFR1	ampla variedade de tipos celulares
GDNF	Ret	células neuroectodermais
SCF	Kit	hematopoiéticas e células mesenquimais

PDGF = Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas; EGF = Fator de Crescimento Endotelial; NGF = Fator de Crescimento de Nervos; FGF = Fator de Crescimento de Fibroblastos; HGF/SF = Fator de Crescimento de Hepatócitos/Fator de Dispersão; VEGF = Fator de Crescimento Endotelial Vascular; IGF = Fator de Crescimento Insulina e semelhantes; GDNF = Fator de Crescimento Neurotrófico (ou Fator Neurotrófico Derivado das Células Gliais); SCF = Fator das Células Tronco.

*representam diferentes estruturais polipeptídicas

**representam homodímeros e heterodímeros ErbB1 (Her1), ErbB2 (Her2),etc.

***Família de FGs

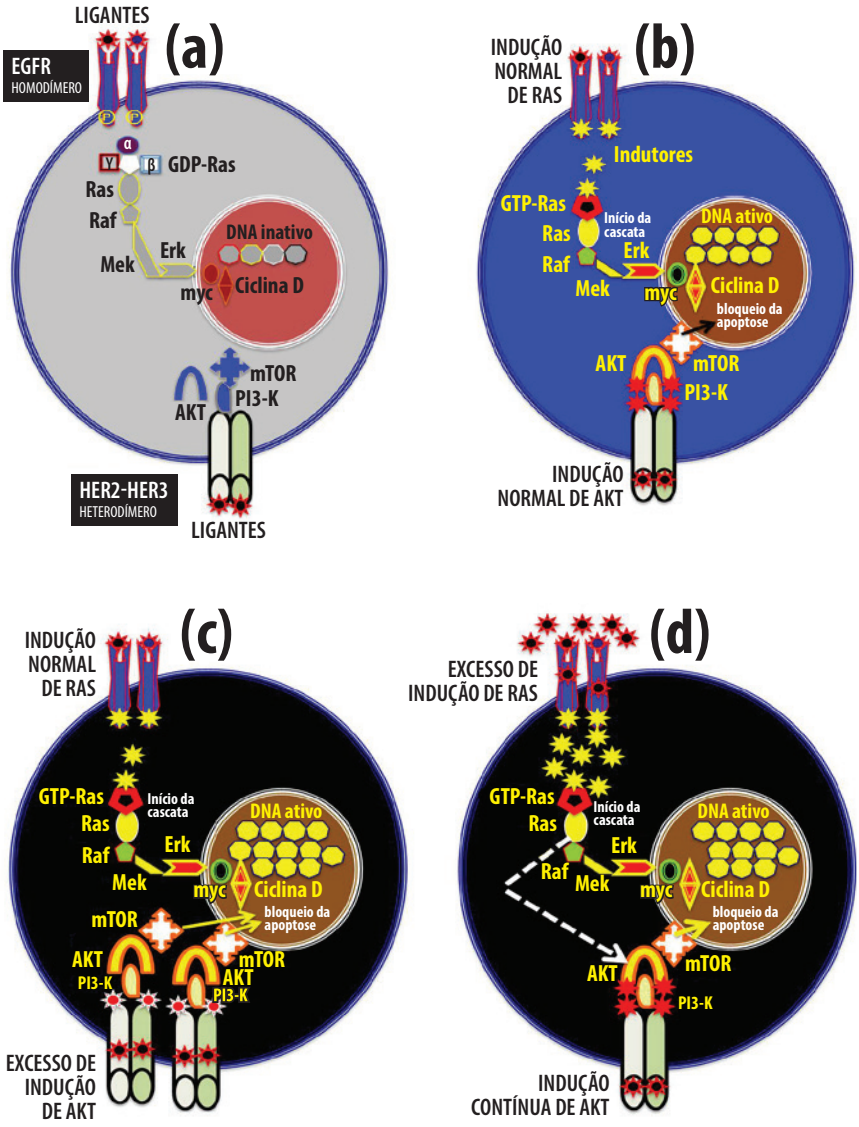


Figura 6
Representação esquemática e resumida da sinalização de EGFR.

(a) célula em repouso (sem sinalização) com ligantes próximos aos receptores homodímeros de EGFR e de heterodímeros de Her2-Her3.

(b) célula em atividade normal com ligantes, que induzem a sinalização de Ras através dos receptores de EGFR e a sinalização de AKT por meio dos receptores Her2-Her3. Há equilíbrio entre a divisão celular promovida pela sinalização de Ras e o bloqueio da apoptose induzida pela sinalização de AKT.

(c) célula em transformação tumoral por amplificação de Her2-Her3, com excesso de indução da sinalização de AKT que causa o bloqueio da apoptose (ação anti-apoptótica). A sinalização de Ras está normal nesta representação.

(d) célula em transformação tumoral por excesso de ligantes indutores de Ras através dos receptores EGFR. Nesse caso, Ras estimula continuamente a divisão celular e interfere na sinalização de AKT estimulando o bloqueio da apoptose.

5. SINALIZAÇÃO DE WNT [4, 7, 13, 19]

Significado: Wnt é uma sigla em inglês com letras extraídas das palavras **W**ingless (drosófilas mutantes sem asas) e I**nt** (denominação do gene mutante que causa a ausência de asas em drosófilas).

Função normal: Wnt é uma proteína indutora que regula a sinalização para a divisão, diferenciação e migração celular, desde a fase embrionária. Para que a sinalização ocorra é necessário que a proteína Wnt se ligue a um receptor externo de membrana conhecido por *Frizzled* ("forma ondulada", em inglês) e que é sintetizado por um oncogene.

Destaque: Essa sinalização retira átomos de fosfatos da molécula de β-catenina induzindo-a a estimular sinalizadores que ativam a divisão celular.

Principais tumores associados: Mama, próstata, colorretal e ovário.

Sinalização normal de Wnt: A proteína Wnt ao se ligar com o receptor *Frizzled* ativa a proteína *Dishevelled* ("desarrumado"ou "desgrenhado", em inglês) que, por sua vez, libera moléculas de β-catenina de um complexo molecular que estava em repouso (figura7a). A liberação de β-catenina conduz a sinalização

para o processo de transcrição do DNA e divisão celular (figura 7b).

Sinalização anormal de Wnt: Quando o oncogene que sintetiza Frizzled se torna mutante, ocorre um estímulo de sua síntese (amplificação), fato que permite se ligar a muitas proteínas de Wnt. Dessa forma, desencadeiam-se múltiplos sinais simultâneos da sinalização de Wnt que acelera consideravelmente a divisão celular (figura 7c).

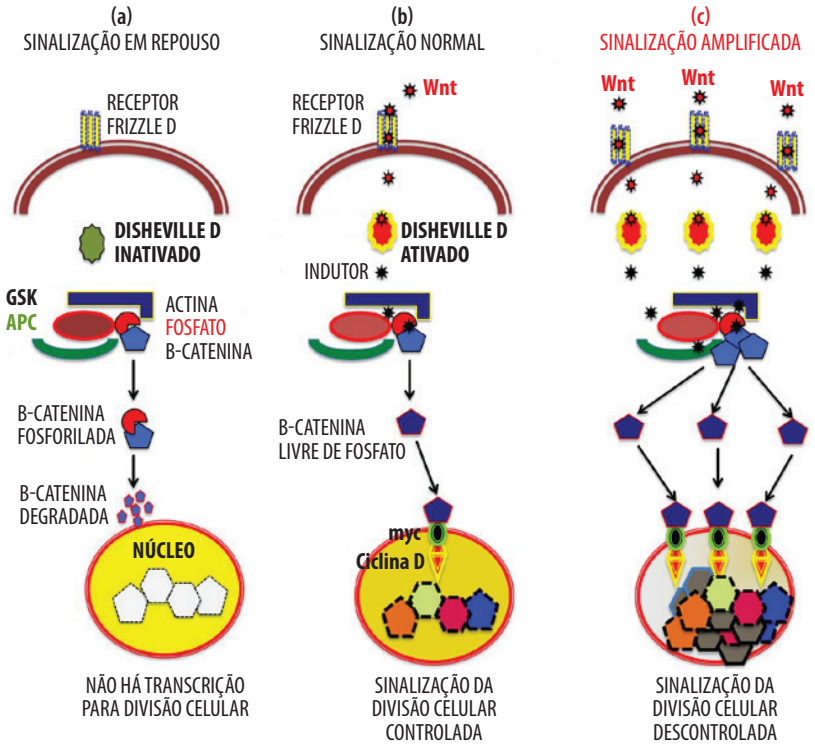


Figura 7
Representação esquemática e resumida da sinalização de Wnt.

(a) Componentes da sinalização Wnt em repouso. A célula não se divide;
(b) Sinalização normal de Wnt. A proteína Wnt penetra na célula e ativa o sinalizador Dishevelled, que a transforma em indutora específica para romper a ligação de fosfato com β-catenina. A β-catenina livre ativa a sinalização myc-ciclina D para

promover a divisão celular controlada.

(c) Sinalização anormal por amplificação do gene que sintetiza o receptor Frizzled. O aumento do número de receptores Frizzled permite maior influxo de proteínas Wnt, desencadeando contínuas sinalizações da via Wnt que resulta na divisão celular descontrolada.

6. SINALIZAÇÃO DE NF-KB [4, 7, 13, 20]

Significado: NF-κβ é uma sigla em inglês que significa **F**ator **N**uclear κβ.

Função normal: A proteína NF- κβ atua no citoplasma e núcleo, regulando a sobrevida celular por meio da indução de pelo menos três genes, com destaques para o gene P52 que inibe a apoptose, gene P50 que estimula os linfócitos B a sintetizarem imunoglobulinas que atuam no controle da imunidade, e gene Rel A que estimula a divisão celular. Esses três genes são epigenes por sofrerem influências de indutores externos (ver Destaque).

Destaque: Essa via de sinalização é ativada por meio de um ou mais dos seguintes receptores transmembrana: ILR-1, TNFR, GFRs e CD40. Através desses receptores passam vários tipos de indutores, notadamente as interleucinas (IL-1), vírus, bactérias e carcinógenos. Portanto, o excesso de indução é uma das causas que alteram a sinalização de NF-κβ, mas que também pode se tornar anormal por mutação na proteína **TRAF** (sigla inglesa extraída de **T**NF **R**eceptor **A**ssociated **F**actor), que faz parte da cascata de reação dessa sinalização, bem como por mutação na própria proteína NF-κβ.

Principais tumores associados: Mieloma múltiplo, próstata, mama e leucemia linfoide aguda (LLA).

Sinalização normal de NF-κβ: A figura 8a resume em cinco etapas a reação em cascata das transformações químicas que ativam moléculas de NF-κβ. Ao serem ativadas, essas moléculas regulam o bloqueio do gene P52 causando

a antiapoptose, controlam a imunidade por ativação do gene P50 e, por fim, comandam a divisão celular por indução do gene Rel A. Destaca-se nessa sinalização normal a participação da proteassoma, que é um complexo proteico que atua no sentido de degradar proteínas anormais ubiquitinadas (marcadas com ubiquitinas) e que estão livres no citoplasma da célula. Os produtos degradados fosforilam moléculas de **IK**-β (**I**nibidor de **K**appa β) que, por sua vez, convertem a NF-κβ inativa em sua forma ativa.

Sinalização anormal de NF-κβ: A figura 8b mostra as causas e consequências da sinalização anormal de NF-κβ. Uma das causas é atribuída ao excesso de indutores (IL-1, vírus, bactérias ou carcinógenos) que desencadeiam reações contínuas de sinalização que culminam com a elevação da concentração de NF-κβ ativa. Entretanto destaca-se nessa sinalização anormal o aumento de proteínas anormais no citoplasma que, após terem sido ubiquitinadas, são degradadas pelas proteassomas e os produtos dessa degradação fosforilam continuamente a proteína IK-β. Resultante dessa ação química formam-se múltiplas moléculas de NF-κβ ativas que promovem ininterruptamente o bloqueio da apoptose, o estímulo da divisão celular, e a síntese acentuada de imunoglobulinas.

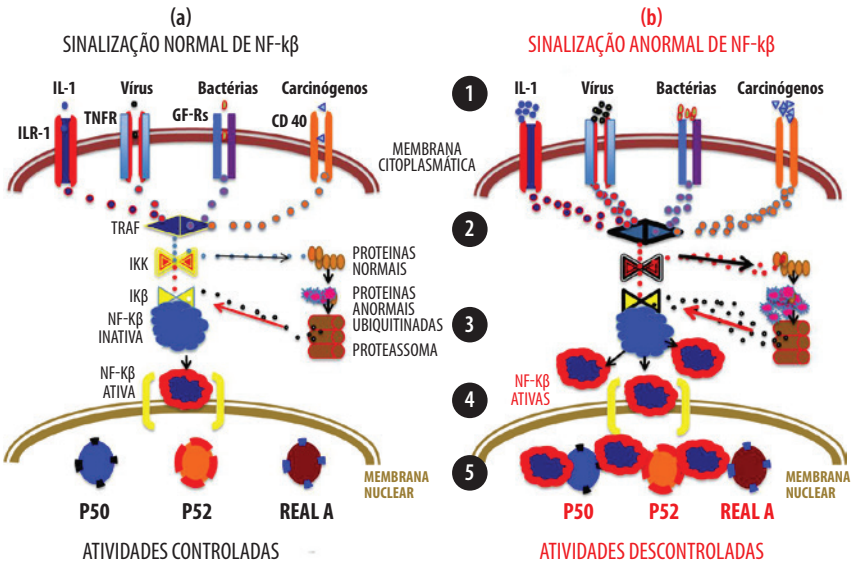


Figura 8
Representação esquemática e resumida da sinalização de NF-κβ.

a) Sinalização normal de NF-κβ. (1): vários tipos de indutores penetram na célula através de receptores transmembrana e lançam pequenas moléculas proteicas que estimulam a molécula sinalizadora TRAF; (2): a TRAF estimulada reage com a enzima IKK (I kappa β kinase) que ativa a proteína IK-β; (3): alguns produtos indutores (IL-1, vírus, bactérias, carcinógenos, etc.) podem alterar as estruturas das proteínas normais que fazem parte da composição da célula tornando-as anormais e, por isso, são degradadas por proteassomas. Os produtos que são degradados atingem moléculas de IK-β transformando-as em IK-β fosforiladas; (4): as IK-β fosforiladas convertem NF- κβ inativas em NF-κβ ativas, e estas se dirigem ao núcleo da célula; (5): ao penetrarem no núcleo, as NF-κβ ativas podem induzir um ou mais genes, com destaques para o gene P50 que atua na produção de imunoglobulinas, o gene P52 que bloqueia a apoptose celular, e o gene Rel A que induz a divisão celular.

b) Sinalização anormal de NF-κβ. (1): o excesso de indutores (IL-1, vírus, bactérias, carcinógenos) estimulam prolongadamente o sinalizador TRAF*; (2): o estímulo continuado de TRAF eleva a concentração de IKK e de IK-β; (3): essas sinalizações contínuas, associadas aos efeitos epigenéticos, transformam proteínas normais em anormais, que são degradadas intensamente pelas proteassomas. Expressivas concentrações de produtos degradados pelas proteassomas atingem múltiplas moléculas de IK-β, fosforilando-as; (4): as IK-β fosforiladas transformam NF-κβ inativas em ativas, que são direcionadas ao núcleo; (5): no núcleo as moléculas de NF-κβ ativas estimulam continuamente os genes P50, P52 e Rel A, fazendo com que a célula produza excesso de imunoglobulinas anormais (ex: mieloma múltiplo), impede a apoptose e estimula descontroladamente a divisão celular. *a TRAF pode sofrer mutações próprias desorganizando toda a sinalização.

7. SINALIZAÇÃO DE NOTCH [4, 7, 13, 21]

Significado: Notch significa "fenda" em inglês, uma vez que o receptor homônimo tem a estrutura química com a forma de uma fenda.

Função normal: A molécula de Notch, que faz parte do receptor de Notch (figura 9a), tem a função de oncogene que atua no controle da sinalização para a divisão, diferenciação e apoptose celular. Tem extensa participação na formação celular dos tecidos envolvidos na neurogênese, hematopoiese, miogênese e angiogênese, principalmente.

Destaque: O receptor de Notch tem uma estrutura proteica complexa em que o domínio externo é maior que o interno. Nesta complexidade há quatro tipos diferentes de Notch identificados por Notch1, Notch2, Notch3 e Notch4, que são diferenciados por alterações moleculares evolutivas sem que tenham influência nas suas funções normais.

Principais tumores associados: A maioria dos tumores cervicais, 10% das leucemias linfocíticas agudas (LLA) com destaque para LLA-T, tumores de próstata, colon, células escamosas do pulmão, mama e melanoma.

Sinalização normal: A sinalização de Notch é ativada quando uma célula interage com outra vizinha (sinalização paracrina) e esta emite sinais para o domínio de EGF do receptor externo de Notch, que altera sua estrutura química. Esta alteração causa uma expansão em forma de fenda na região de ligação dos domínios interno e externo, e é nesse espaço que se acomodam as moléculas de TACE, presilinas e sortilinas que dão início à proteólise e desagregação do receptor de Notch. Resultante dessa instabilidade molecular, a molécula de Notch se fragmenta e seus três componentes básicos (RAM, ANK e TAD) se dissociam. TAD induz o processo de transcrição para a divisão, diferenciação e apoptose celular. A figura 9, além de resumir todas essas etapas, apresenta também a estrutura química de Notch como receptor transmembrana e identifica as siglas das moléculas acima mencionadas.

Sinalização anormal de Notch: Ocorre por mutações que amplificam a síntese de Notch e que resulta em maior número desses receptores, bem como mutações estruturais que alteram alguns sinalizadores dessa via. Nas duas situações podem ocorrer o comprometimento da divisão e diferenciação celular.

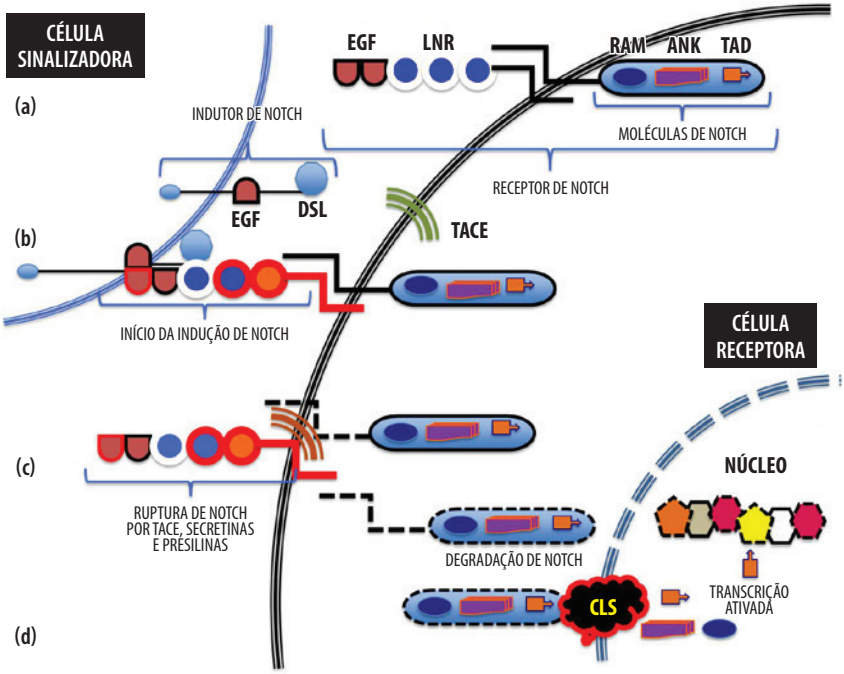


Figura 9
Representação esquemática e resumida da sinalização de Notch.

(a) Principais moléculas participantes da sinalização celular: na **célula sinalizadora**, a molécula ligante, ou indutor de Notch, é composta por domínios proteicos de EGF (Fator de Crescimento Epidermal) e DSL (Delta Serrata Lag 12); na **célula receptora**, o receptor de Notch é uma estrutura complexa, do tipo transmembrana, que tem duas estruturas proteicas interligadas, sendo uma intracelular, e outra extracelular. A estrutura intracelular é a própria molécula de Notch constituída pelas proteínas RAM (Molécula Associada a RBP-Jk), ANK (Anquirina) e TAD (Domínio Associado à Transativação). A estrutura extracelular do receptor de Notch, por sua vez, é integrada pela molécula de EGF e LNR (Lin12 Notch Receptor). Integrando a membrana da célula receptora existem outras moléculas, com destaque para a enzima TACE

(Enzima Conversora Associada a TNF), além de presilinas e sortilinas.

(b) O receptor de Notch, ao se ligar com o indutor de Notch, dá início à reação deste complexo interativo, com alterações nas suas estruturas moleculares.

(c) Na sequência do processo acima abre-se uma fenda (notch, em inglês), por meio da qual a enzima TACE se acomoda e promove a ruptura entre as estruturas interna e externa do receptor de Notch, iniciando sua degradação. Outros integrantes proteicos de membrana, notadamente as sortilinas e as presilinas fazem o mesmo.

(d) A molécula de Notch isolada após sua degradação se liga a uma proteína de membrana nuclear denominada CLS (Estrutura controladora da Vida Celular). A CLS decompõe Notch em seus componentes básicos: RAM, ANK e TAD. O componente TAD, especificamente, ativa os genes para atuarem na transcrição da divisão, diferenciação e apoptose celular.

8. SINALIZAÇÃO DE AKT (OU PBK) [4, 7, 13, 22]

Significado: Sigla extraída das letras de uma linhagem de rato **(AK)** que desenvolvia tumores **(T)**. A sigla PBK, por sua vez, é menos usada atualmente nessa sinalização e significa **P**roteina **K**inase **B**.

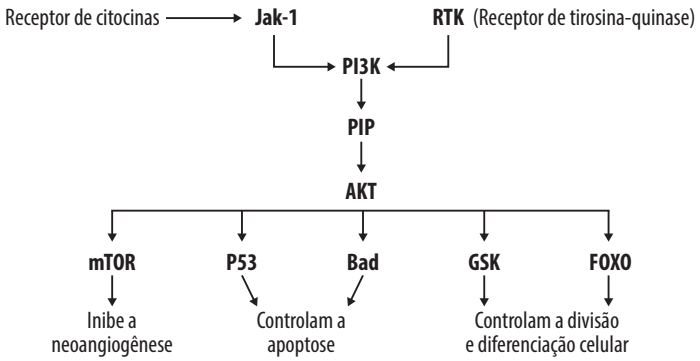
Função normal: Participam várias proteínas e enzimas sinalizadoras sintetizadas por oncogenes (Jak-1, RTK, PI3K e AKT) com funções nos controles da divisão e diferenciação celular, da apoptose e da angiogênese.

Destaque: Os receptores de citocinas e de tirosina-quinase (RTK), ambos do tipo transmembrana, têm componentes enzimáticos na região internalizada do citoplasma denominados por quinases (tirosina-quinase, janus-quinase), e eles transferem grupos fosfatos de moléculas de alta energia para outras proteínas sinalizadoras que estão inativadas. Esse processo induz a reação em cadeia da sinalização. A molécula de AKT para estudos específicos deve ser diferenciada em seus tipos específicos: AKT1, AKT2 e AKT3.

Principais tumores associados: Mama, ovário, pâncreas, glioblastomas multiformes, pulmão de pequenas células, sarcomas, várias neoplasias hematológicas, entre outros.

Sinalização normal: A figura 10 apresenta um resumo esquemático da

sinalização de AKT promovida pela indução do receptor de citocinas (Tyr-2/Jak-1) conforme mostram as passagens numeradas de 1 a 6, bem como do receptor RTK. As passagens 6 e 7 exemplificam a ativação conjunta do receptor de citocina ligado à Jak-1 e ao receptor RTK. No esquema dessa sinalização conjunta a figura dá destaque apenas às induções do gene P53 e da ciclina D. Com o objetivo de mostrar com mais abrangência a sinalização desses dois receptores, o esquema baixo mostra a cascata de AKT induzida por PI3K e suas cinco induções de controle celular relacionada com a divisão, diferenciação e apoptose celular, além da neoangiogênese.



Sinalização anormal: Mutações que amplificam as proteínas que participam das atividades da sinalização de AKT estão associadas à maior sobrevivência das células tumorais, dando-lhes condições de adquirirem mutações sequenciais.

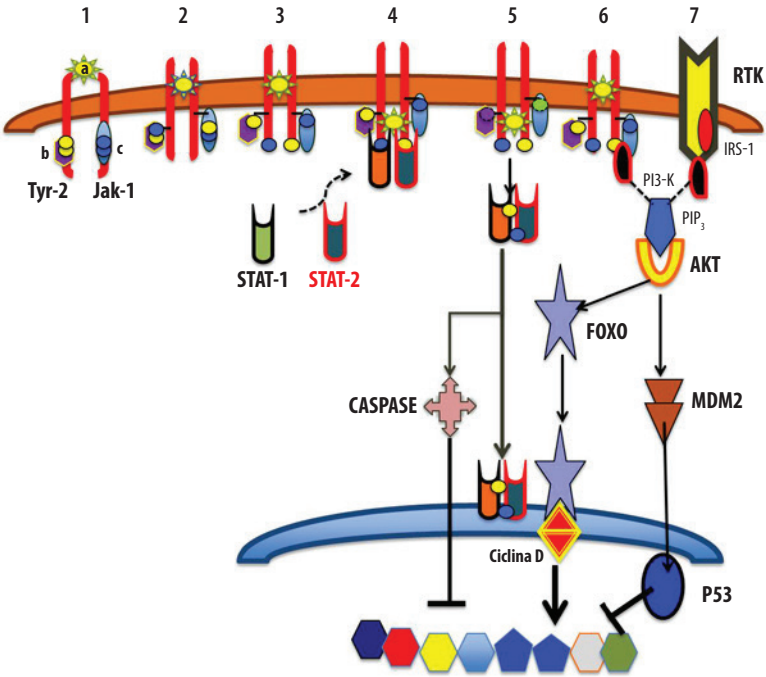


Figura 10
Representação esquemática e resumida da sinalização de AKT.

1) Receptores de citocinas (a) ligados à tirosina-quinase ou Tyr-2 (b) e à Janus-quinase ou Jak-1 (c), ambos com átomos de fosforo representados e diferenciados por círculos amarelos e azuis para facilitar a interpretação do esquema de sinalização.
2) Quando a citocina penetra entre os receptores ocorrem reações fazendo-os se aproximarem um do outro. Essa aproximação desloca moléculas de Tyr-2 e de Jak-1 para as laterais de cada receptor e provoca a troca de átomos de fósforos entre elas (transfoforilação).
3) Tyr-2 e Jak-1 cedem, cada um, átomos de fósforos que se acomodam nas bases dos dois receptores.
4) As moléculas sinalizadores de transcrição e transdução **STAT1** e **STAT2** (**S**ignal **T**ransducers and **A**ctivator of **T**ranscription **1** and **2**) são atraídas em direção aos receptores de citocinas e recebem átomos de fosforo, fosforilando-as e tornando-as ativadas.
5) STAT1 e STAT2 ativadas sinalizam as caspases para desencadearem o controle da apoptose celular.
6) O receptor de citocinas Jak-1 fosforilado reage com a molécula **PI3-K** (**P**hospho **I**nositide 3-**K**inase), e esta sinaliza **PIP**$_3$ (**P**hosphatidyl **I**nositol 3,4,5 Tri^3-**P**hosphate) que, em seguida, estimula a molécula de AKT para realizar múltiplas **sinalizações** que ativam outras moléculas, com destaques para **FOXO** (**F**orkhead B**OX** -Factors **O**f Transition), **MMD2** (**M**onocyte to **M**acrophage **D**ifferentiation associated 2), **mTOR**

(**m**ammalian **T**arget **O**f **R**apamycin), **GSK** (**G**licogen **S**ynthase **K**inase) e **Bad** (**B**cl-2 **A**ssociated **D**eath Promoter). Neste esquema representamos apenas a cascata reativa de FOXO e MMD2.

7) A sinalização de AKT é induzida, também, por meio do receptor de tirosina-quinase RTK, que está ligado à molécula conhecida por receptora de substrato de insulina (IRS-1). Esse conjunto RTK-IRS-1 estimula PI3-K e PIP_3, que em seguida também ativa a molécula de AKT.

9. SINALIZAÇÃO DE HEDGEHOG [4, 7, 13, 23]

Significado: Hedgehog significa *ouriço cacheiro* em inglês.

Função normal: A sinalização de Hedgehog se dá por meio de dois receptores transmembrana sintetizados por genes supressores, denominados por **PTC** (**Pat**ched) e **SMO** (**Smo**othened), e por uma proteína indutora denominada por **Hh** (**H**edge**h**og) sintetizada pelo oncogene Hh. Os receptores PTC e SMO são interdependentes e limitados à estimulação da proteína indutora Hh. Essa proteína é sintetizada na própria célula e é liberada para fora (exocitose) quando há necessidade de ativar sua sinalização. Uma vez fora da célula, passa a ser molécula indutora que se liga ao receptor PTC, alterando sua estrutura. Essa alteração estrutural faz com que o receptor SMO desencadeie a sinalização de Hedgehog (figura 11).

Destaque: Os receptores transmembrana PTC e SMO estão interligados e, mediante indução externa da proteína Hh, o receptor PTC pode estimular ou inibir o receptor SMO. No citoplasma uma proteína relacionada com a transcrição de DNA e denominada por **GLI** (**Gli**oma associated oncogene) regula o momento de ativar ou inibir a transcrição de DNA, conforme ilustra a figura 11.
Essa sinalização promove o controle do desenvolvimento esquelético, dérmico, gastrointestinal e pulmonar durante a fase embrionária e nas renovações teciduais durante a vida.

Principais tumores associados: Meduloblastoma, rabdomiosarcoma,

carcinomas das células basais, de células epiteliais do esôfago, estômago, ducto biliar, pulmão e colon, e carcinoma de próstata que não seja de origem endodérmica.

Sinalização normal: Está fundamentada no equilíbrio das ações da proteína GLI que controla as transcrições de genes que estimulam a divisão celular e a sua diferenciação, bem como a angiogênese.

Sinalização anormal: Ocorre notadamente pelo aumento do estímulo autócrino. A excessiva liberação de proteínas Hh induz continuamente a sinalização de Hedgehog para a transcrição de genes que promovem divisão celular e estímulo à angiogênese.

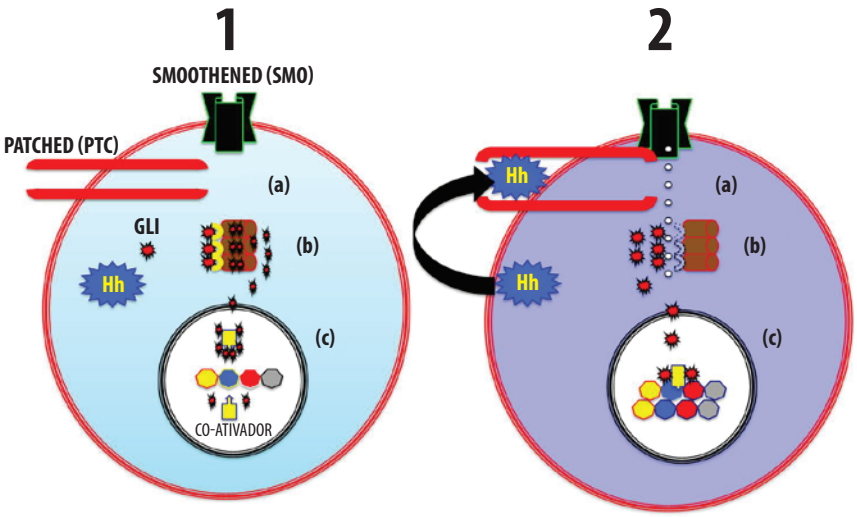


Figura 11
Representação esquemática e resumida da sinalização de Hedgehog.

(1) Sinalização em repouso: (a) os receptores PTC e SMO estão inativos; (b) as moléculas GLI se ligam às proteassomas, onde serão fracionadas em moléculas menores que se interiorizam no núcleo; (c) no núcleo, as moléculas fracionadas de GLI bloqueiam os co-ativadores de transcrição do DNA dos genes que induzem a divisão celular e o estímulo à angiogênese.

(2) Sinalização em atividade: (a) a proteína Hh (Hedgehog) produzida por uma determinada célula é liberada para o seu meio exterior para efetuar a sinalização autócrina por meio de sua ligação com o receptor PTC; (b) O complexo PTC-Hh se modifica estruturalmente e passa a ativar o receptor SMO para liberar pequenas moléculas que rompem as ligações de GLI com substratos das proteossamas, impedindo que essas organelas efetuam o fracionamento de GLI; (c) as moléculas íntegras de GLI penetram no núcleo e se juntam aos co-ativadores de transcrição induzindo-os a estimularem os genes que controlam a divisão celular e a neoangiogênese.
Observação importante: Quando a célula produz excessiva concentração de Hh, a estimulação da sinalização de Hedgehog é contínua e descontrolável, transformando células normais em tumorais e atraindo vasos sanguíneos (neoangiogênese) por onde células tumorais se tornam circulantes, aumentando as possibilidades de metástases.

CONCLUSÃO

O entendimento particularizado das sinalizações celulares que transformam células normais em tumorais representa um dos mais evidentes avanços da biologia do câncer até o presente, e expõe a fragilidade dos nossos conhecimentos atuais diante da complexidade dessa doença[8]. A exclusividade do câncer advém das seguidas alterações celulares que se acumulam e se interagem ao longo das transformações das células normais em tumorais, e, destas, em células metastáticas, envolvendo não apenas uma das vias de sinalização celular, mas múltiplas vias. A busca do entendimento desse emaranhado de 800 a 1000 proteínas, enzimas e hormônios, que se alteram progressivamente ao longo de um tempo variável e não previsível, é certamente um dos maiores desafios da biologia do câncer, dos estudos moleculares e das proposições efetivas apresentadas até o presente para o controle desta doença.

REFERÊNCIAS

1. WEINBERG R. A. – The biology of cancer. Garland Science, Taylor & Francis Group. New York, 2007, 796p.
2. TOMASETTI C.; VOLGESTEIN B. – Variation in cancer risk among tissues can be explained by number of stem cell divisions. Science, 347: 78-80, 2015.
3. HANAHAN D.; WEINBERG R.A. – Hallmarks of cancer: the next generation. Cell, 144: 646-674, 2011.
4. MARTIN G.S. – Cell signaling and cancer. Cancer Cell, 4: 167-174, 2003.
5. GENOMICS ENGLAND. www.genomicsengland.co.uk 2014.
6. HEYES N.E.; MACDONALD G. – Erb-B receptors and signaling pathways in cancer. Current Opinion in Cell Biology, 21: 177-184, 2009.
7. WEINBERG R. A. – Pathways in human cancer. www.cellsignal.com 2007.
8. MUKHERJEE S. – O imperador de todos os males. Uma biografia do câncer. Companhia das Letras, São Paulo, 2012, 640p.
9. KILPIVAARA O.; AALTONEN L.A. – Diagnostic cancer genome sequencing and contribution of germline variants. Science, 339: 1559-1562, 2013.
10. DELLAIRE G.; BERMAN J.; ARCECI R. – Cancer Genomics. From bench to personalized medicine. Elsevier, London, 2014, 494p.
11. GINSBURG G.S.; WILLARD H.F. – Essentials of Genomic and Personalized Medicine. Elsevier, San Diego, 2010, 830p.
12. WILHELM B.G.; MANDAD S.; – TRUCKENNBRODT S. Composition of isolated synaptic boutons reveals the amount of vesicle trafficking proteins. Science, 344:1023-1027, 2014.
13. VOLGESTEIN B.; KINZLER K.W. – Cancer genes and the pathways they control. Nature Medicine, 10: 789-799, 2004.
14. SHAW J.R.; CANTLEY L.C. – Review article Ras, PI3K and mTOR signaling controls tumor cell growth. Nature, 441: 424-430, 2006.
15. KENAKIN T. – A holistic view of GCPR signaling. Nature Biotechnology, 28: 928-929, 2010.
16. SHI Y.; MASSAGUÉ J. – Mechanisms of TGF-Beta signaling from cell membrane to the nucleus. Cell, 113: 685-700, 2003.
17. MASSAGUÉ J. – TGF-Beta signalling in context. Nat Rev Mol Cell Biol, 13: 616-630, 2012.
18. MAKINOSHIMA H.; TAKITA M.; MATSUMOTO S. – Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling regulates global metabolic pathways in EGFR- mutated long adenocarcinoma. J Biol Chem, 289: 28013-28023, 2014.
19. NUSSER R. – Wnt signaling in disease and in development. Cell Research, 15:

28-32, 2005.

20. KUMAR V.; PALERMO R.; TALORA,C. – Notch and NF-kBeta signaling pathways regulate miR-223/FBXW7 axis in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Leukemia, 28: 2324-2335, 2014.

21. ANDERSSON E.R.; SANDBERG R.; LENDAHL U. – Notch signaling simplicity in design, versatility in function. Development, 138: 3593-35612, 2011.

22. PLAS D.R.; THOMPSON C.B. – Akt-dependent transformation: there is more to growth than just surviving. Oncogene, 24: 7435-7442, 2005.

23. BRISCOE J.; THÉROND P.P. – The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 14: 416-429, 2013.

CAPÍTULO 3

MARCADORES TUMORAIS APLICÁVEIS NO DIAGNÓSTICO E CONTROLE DO CÂNCER HUMANO

Paulo Cesar Naoum
Flávio Augusto Naoum

INTRODUÇÃO

Marcadores tumorais são produtos secretados principalmente por células de tecidos neoplásicos como resposta à presença de tumor. Esses produtos podem ser avaliados quantitativamente ou qualitativamente por métodos bioquímicos, imunológicos, moleculares, citológicos e histológicos. Embora a maioria dos marcadores tumorais sejam investigados no sangue, suas presenças também podem ser detectadas na urina, fezes, outros fluidos corporais, bem como nos próprios tecidos tumorais. Há vários produtos moleculares que são caracterizados como marcadores tumorais, com destaques para proteínas, enzimas, antígenos, moléculas do sistema imune, receptores de membrana, hormônios, cromossomos, oncogenes e genes supressores (1), conforme mostra a figura 1.

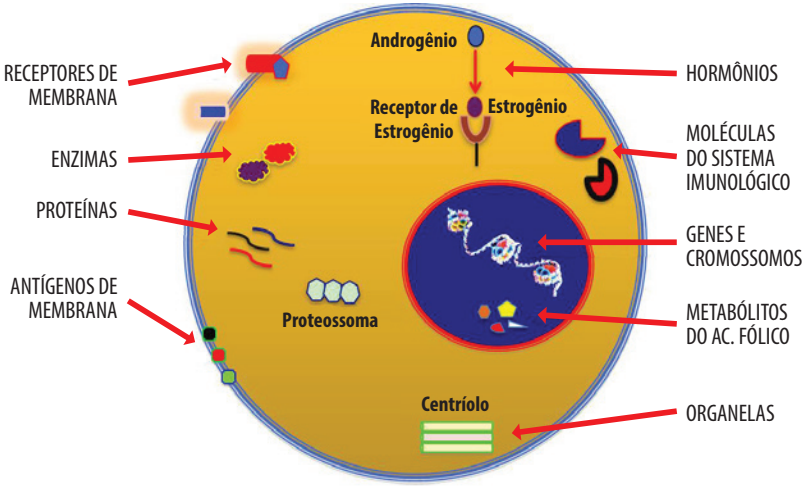


Figura 1
Representação esquemática de uma célula com os principais produtos biológicos que podem ser avaliados como marcadores tumorais.

Historicamente, o primeiro teste laboratorial que precedeu os atuais marcadores tumorais e descrito com fundamentação científica foi publicado em 1848 por Henri Bence-Jones (2). O autor destacou com muita clareza em seu artigo a presença de proteínas anormais na urina de pessoas com mieloma múltiplo que, ao ser aquecida, inicialmente floculava, para, em seguida, precipitar-se intensamente no fundo do tubo de ensaio. Anos mais tarde, essas proteínas foram identificadas como gama globulinas anormais de cadeias leve e o teste foi denominado por *proteinuria de Bence-Jones*. Um outro indicador tumoral, também precursor dos atuais marcadores tumorais, foi a *pesquisa de sangue oculto nas fezes*, cuja positividade pressupõe a presença de tumores causadores de câncer colo-retal e que promovem sangramentos imperceptíveis no intestino grosso (3). Da mesma forma, a *dosagem bioquímica de cálcio sérico*, usada notadamente no controle de algumas patologias endócrinas, entre outras aplicações, também foi usada como teste laboratorial para o acompanhamento da

evolução de determinados tipos de tumores, com destaques para adenocarcinomas de mama, rim e pâncreas, carcinoma epidermóide do pulmão, mieloma múltiplo, leucemia e linfoma de células T do adulto, entre outros (4). Outros dois testes bioquímicos utilizados no acompanhamento de câncer foram as *dosagens de fosfatases ácida e alcalina*. A elevação persistente e gradativa dos níveis de fosfatase ácida em homens, com alterações morfológicas da próstata, passou a ser considerada como indicadora de possível desenvolvimento tumoral nesta glândula. A fosfatase alcalina elevada, por sua vez, passou a ser indicadora do desenvolvimento tumoral em câncer com metástases óssea e hepática (4). É necessário destacar que todos os *indicadores tumorais* acima descritos ainda são empregados por muitos médicos oncologistas como testes auxiliares na monitoração de determinados tipos de câncer. Por fim, a *eletroforese de proteinas séricas* foi introduzida como teste de auxílio diagnóstico de várias doenças, inclusive de câncer, antes do desenvolvimento tecnológico de rastramento específico de proteinas feitos por meio de anticorpos monoclonais. Nesse sentido, a eletroforese de proteínas foi e continua sendo um importante teste laboratorial para suspeitas clínicas genéricas, inclusive para a suposição da presença de tumores em desenvolvimento. Como indicador genérico de câncer, por exemplo, verifica-se que o fracionamento eletroforético das proteinas séricas com elevações conjuntas de globulinas alfa-1 e alfa-2 sugerem, entre outras patologias, algum tipo de proliferação tumoral no organismo, mesmo antes de aparecerem os sintomas clínicos da doença (figura 2). A explicação para este fato está fundamentada na presença, entre outros produtos, da *glicoproteina ácida* na região conhecida por globulina alfa-1. A glicoproteina ácida ao mostrar-se elevada passa a ser um importante indicador da fase aguda de inflamações, situação comum na maioria dos tumores malignos. Na região de globulina alfa-2, por sua vez, se condensam, entre outros produtos, as proteinas degradadas de células anormais, inclusive as tumorais (5). Na monitoração clínica e analítica de pacientes cujas inflamações se tornaram crônicas, é possível supor que, entre outras patologias, possa estar ocorrendo o desenvolvimento tumoral. Assim sendo, é possível que o proteinograma eletroforético mostre,

além das elevações das globulinas alfa-1 e alfa-2, o aumento policlonal da fração gama globulina (figura 3). Por outro lado, a eletroforese de proteínas também pode atuar como indicadora laboratorial de câncer para pessoas portadoras de mieloma múltiplo. Nesses casos, a acentuada condensação de um tipo de imunoglobulina anormal na região de gama globulina pode ser visualizada como *fração monoclonal* ou *gama monoclonal*, conforme mostra a figura 4. Todos esses indicadores tumorais, entretanto, devem ser usados em conjunto com a avaliação clínica e na suposição da presença de um tumor primário ou de um câncer. A evolução histórica dos testes que atuaram como indicadores tumorais, alguns deles capazes de promover a identificação de tumores e outros na monitoração de tratamentos de vários tipos diferentes de câncer, estimularam pesquisas de produtos celulares que tivessem maior definição analítica na identificação e acompanhamento clínicos de tumores específicos, formatando, ao longo de muitos anos, o que se convencionou denominar de ***marcadores tumorais***.

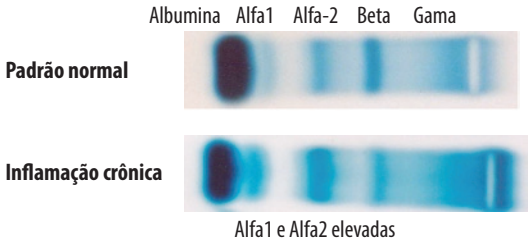


Figura 2
Eletroforese de proteínas séricas com elevações das frações alfa-1 e afla-2 globulinas em situações de inflamações agudas.

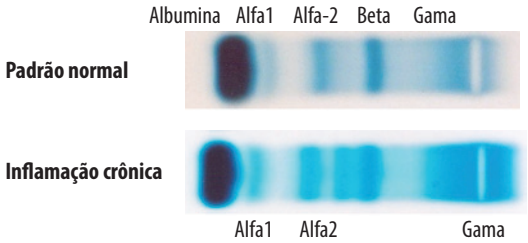


Figura 3
Eletroforese de proteínas séricas com elevações das frações alfa-1, alfa-2 e gama globulina policlonal em situações de inflamações crônicas.

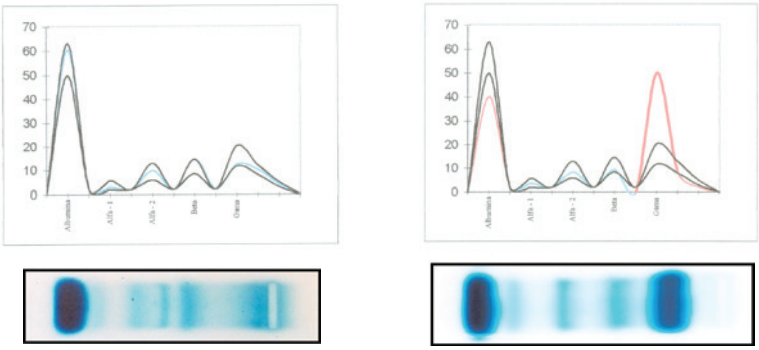


Figura 4
Eletroforese de proteínas séricas. À esquerda fracionamento e traçado gráfico normais. À direita, exemplo típico gamopatía monoclonal de mieloma múltiplo. Observe a elevação condensada da fração de gama globulina e o traçado gráfico (em vermelho) do "pico" monoclonal.

Coincidentemente, por volta dos anos 80 do século passado, ocorreu extraordinário avanço de tecnologias imunológicas e moleculares, possibilitando a produção de marcadores tumorais com bons níveis de *especificidade* e *sensibilidade*. Define-se a *sensibilidade* de um marcador tumoral como a sua capacidade em detectar precocemente a existência de um tumor (sensibilidade clínica), bem como de identificar pequenas alterações indicadoras da presença de um tumor (sensibilidade analítica). A *especificidade* de

um marcador tumoral, por sua vez, é definida como a sua capacidade em mostrar-se negativo na ausência do tumor. Portanto, considera-se um ótimo marcador tumoral para um determinado tipo de tumor aquele em que *sensibilidade* e *especificidade* são superiores a 90% (6).

O desejo e a pressão dos oncologistas para terem um meio analítico sensível, específico e rápido, capaz de auxiliar diagnósticos clínicos confiáveis em pessoas com câncer, fez com que a indústria de produtos laboratoriais colocasse no mercado vários marcadores tumorais, muitos dos quais sem a devida consolidação de suas aplicações e as seguranças desejáveis. Por conta disso o uso clínico dos marcadores tumorais tem sido alvo de constantes questionamentos, principalmente por parte dos médicos oncologistas. É importante, no entanto, ponderar que suas aplicações se fundamentam em quatro questionamentos frequentes, para os quais há respostas padrões:

1. Os marcadores tumorais, de forma geral, são resolutivos na prevenção do câncer?
   Resposta: Não. Os marcadores tumorais devem ser usados apenas como *"teste de auxílio clínico"* ao diagnóstico, detecção precoce e acompanhamento clínico do paciente com câncer, uma vez que alguns marcadores tumorais podem apresentar resultados positivos em pessoas que não têm tumor. Entre o rol de marcadores tumorais disponíveis para o uso clínico há aqueles que são mais resolutivos que outros, e isto se deve ao fato de terem níveis de sensibilidade e especificidade variados. No entanto, as suas indicações devem estar embasadas na clínica do paciente. Por essas razões, seu uso na prevenção do câncer, mesmo considerando aqueles marcadores bem consolidados para determinados tipos de tumores, ainda não tem, de fato, um consenso médico sobre sua aplicação universal nesse sentido.

2. Por que para um determinado tipo de câncer há vários marcadores tumorais diferentes?
   Resposta: Os exemplos de tumores de mama e próstata explicam com

clareza esta pergunta. As diversas alterações moleculares que podem originar esses dois tipos de tumores são mostradas na tabela 1. Entre as nove vias de sinalização celular bem conhecidas cientificamente e relacionadas com a transformação de células normais em tumorais, seis delas estão relacionadas com tumor de mama e cinco com tumor de próstata. Essas lesões alteram vários tipos de sinalizações celulares e liberam diferentes produtos que podem ser usados como marcadores tumorais específicos(7). Por essa razão, alguns tumores de mama são monitorados pelo marcador tumoral CA 15.3, enquanto que outros tumores de mama podem ser acompanhados por outros marcadores tumorais que são apresentados na tabela 2. O tumor de próstata, por sua vez, apesar da diversidade de causas moleculares, tem na avaliação do PSA o marcador mais sensível e específico, independente da via de sinalização celular alterada.

3. Por que um determinado marcador tumoral está elevado em diferentes tipos de câncer?
   Resposta: Há vários marcadores tumorais com essas características, porém o exemplo mais ilustrativo para esta pergunta é o CEA *(Antígeno cárcino embrionário)*. Elevações de CEA ocorrem em 41% das dezessete neoplasias mais prevalentes no Brasil (8), conforme mostra a tabela 3. Destaca-se, entretanto, que sua alta especificidade de 90 a 95% é usada especialmente para monitorar o tumor colo-retal. Sua avaliação como meio auxiliar para monitorar outros tumores é, portanto, uma escolha do oncologista. Da mesma forma que vários outros marcadores tumorais, o CEA também sofre influência de patologias não tumorais, como são os casos de hepatopatias, doença de Crohn, bronquite, tabagismo e insuficiência renal crônica (9).

4. Como o oncologista faz a escolha do marcador tumoral ideal para um determinado tipo de câncer?
   Resposta: Em geral a escolha se fundamenta nos seguintes princípios:
   a) **Diagnóstico primário do câncer:** com base na suspeita clínica

avalia-se qual o marcador tumoral que tem melhores graus de especificidade e sensibilidade.

b) **Estadiamento do câncer:** com base na fase e na intensidade do câncer se busca relaciona-lo com níveis de concentrações obtidos em dosagens sequenciais do marcador tumoral escolhido.

c) **Seguimento (monitoração ou acompanhamento) do câncer:** avalia-se a eficácia do tratamento do câncer em relação à diminuição da concentração do marcador escolhido.

d) **Remissão ou cura do câncer:** avalia-se o sucesso terapêutico em relação à normalização da concentração do marcador tumoral.

Tabela 1: Diversidade da origem do tumor de mama conforme as vias de sinalização celular alteradas por mutações de seus componentes.

Vias de sinalização celular	Principais tipos de tumores relacionados
Hedgehog	Pele não melanoma, LMC, meduloblastoma, etc.
Ras	**Mama**, ovário, pâncreas, etc.
Wnt	**Mama**, ***próstata***, glioblastoma, etc
NF-κβ	**Mama**, ***próstata***, LLA, mieloma múltiplo, etc.
Akt	**Mama**, pulmão*, LMA, sarcoma, etc.
Notch	**Mama**, ***próstata***, cervix, LLA-T, etc
TGF-β	Pâncreas, colo-retal, gastrointestinal, etc.
GCPR	Ovário, ***próstata***, tireoide, colo-retal, etc.
EGFR	**Mama**, ***próstata***, pulmão, ovário, etc.

*Tumor de pulmão de pequenas células.

Tabela 2: Marcadores tumorais disponíveis para avaliação laboratorial de câncer de mama, solicitados conforme critérios do médico oncologista.

Marcador Tumoral Específico	Base biológica de investigação laboratorial
CA 15-3 (Antígeno de câncer)	Antígeno de carboidrato
CA 27-9 (Antígeno de câncer)	Antígeno de carboidrato
CEA (Antígeno carcinoembrionário)	Antígeno de glicoproteína
MEA (Antígeno mucoide)	Antígeno de glicoproteína
ER (Receptor de estrogênio)	Hormônio
RP (Receptor de progesterona)	Hormônio
HER-2 (Receptor do fator do crescimento epidermal Humano-2)	Oncogene amplificado
Oncotype DX-21 gene signature	Oncogene
Mammaprint-70 gene signature	Oncogene
Prosigna (Prognostic gene signature assay)*	Oncogene
Catepsina D-Endoprotease	Enzima
UPA (Ativador de plasminogênio da uroquinase)	Enzima
Catepsina D-Endoprotease	Enzima

*Também conhecido por PAM50 test

Tabela 3: Possibilidades de usar o CEA como teste de auxílio clínico no diagnóstico e monitoração de diferentes neoplasias conforme seus graus de prevalência no Brasil[1].

Neoplasias	Marcadores usuais [2]	Uso de CEA
1. Pele não melanoma	Não tem[3]	Não
2. Próstata	PSA	Não
3. Mama	Consultar tabela 2	Sim
4. Colo-retal	BRAF V600, KRAS	Sim
5. Pulmão	NSE, ALK, gene EGFR, fr.21.[4]	Sim
6. Estômago	CA19.9, Her2, CA72.4	Sim
7. Cavidade oral	p53, Ki67	Não
8. Tireoide	Calcitonina	Sim
9. Esôfago	CA19.9	Não
10. Linfoma não Hodgkin	CD20, ALK, B2M, LDH	Não
11. Sistema nervoso central	NSE	Não
12. Bexiga	BTAstat, NMP22, cr.3,7,17 e qp21[5]	Não
13. Leucemias	BCR/ABL, B2M	Não
14. Melanoma	BRAF V600, C Kit/CD 117, LD	Não
15. Ovário	CA125, HE4, BRCA1/BRCA2	Sim
16. Laringe	bcl-2, Galectina, KI-67, p53	Não
17. Colo uterino	CA125, HE4	Sim

[1]As 17 neoplasias enumeradas sequencialmente por meio de suas prevalências correspondem a 84% de todos os diferentes tipos de cânceres diagnosticados no Brasil em 2012-2013 (9,10); [2]apresentação de alguns dos marcadores usuais solicitados com maior frequência pelos médicos oncologistas; [3]diagnóstico é feito por biópsia; [4]fragmento 21.1 de citoqueratina; [5]cromossomos.

Dada a importância em se detectar precocemente um tumor maligno e de monitora-lo durante e após o seu tratamento, verifica-se que a busca de marcadores tumorais mais sensíveis e específicos continua de forma incessante. Entre as estratégias para se obter marcadores cada vez mais eficazes, destacam-se aquelas relacionadas com as tecnologias da *genômica*, *proteômica* e *metabolômica*. Na *genômica*, estuda-se os padrões de alterações em genes afetados por diferentes tumores. Alguns desses genes, por exemplo, p53, MYC, RAS, entre outros, têm, no entanto, as *desvantagens* de estarem alterados em mais de um tipo de tumor. Mas, por outro lado, as identificações de genes restritos a alguns tipos de tumores, por exemplo, BRCA1/2, HER-2, HE-4, BCR/ABL, BRAF V600, entre outros, tem propiciado *vantagens* para diagnósticos precoces de vários tipos de câncer, além de indicar terapias específicas (terapia-alvo) com melhor potencial terapêutico. Na *proteômica*, tecnologia ainda em fase de desenvolvimento para aplicação em oncologia, pretende-se conhecer por meio das análises de centenas a milhares de proteínas, quais delas estariam alteradas nos eventos pré-tumorais, tumorais e pós-tumorais. O resultado desse mosaico proteico poderá estabelecer padrões relacionados com a prevenção e o acompanhamento da evolução tumoral com alto nível de sensibilidade e especificidade analítica. Por fim, a *metabolômica do câncer* - tecnologia avançadíssima que associa as sinalizações dos genes do câncer (genômica), produção de proteína e enzimas anormais (proteômica) e o resultado metabólico da célula tumoral - poderá oferecer em breve alguns dos *marcadores da evolução tumoral* mais completos para prevenção, diagnóstico e monitorização de tumores (11).

PROVENIÊNCIA BIOLÓGICA DOS PRINCIPAIS MARCADORES TUMORAIS.

Em geral, os marcadores tumorais são resultantes de:

1. genes mutantes

1.1. oncogenes - ao serem ativados descontrolam as sinalizações celulares da divisão, do desenvolvimento e da mobilidade celular, bem como das sínteses de receptores de membranas, entre outros. Os oncogenes mais conhecidos se devem às hiperexpressões das sínteses de proteínas ou enzimas, que ocorrem nos genes ALK, Her-2 e EGFR. Há também os oncogenes que, ao sofrerem mutações em seus DNA, podem alterar estruturas proteicas envolvidas em diversas sinalizações celulares, como são os casos dos genes BRAF e Ras.

1.2. supressores - são genes que ao serem desativados falham no controle da morte celular ou na correção de mutações que ocorrem em moléculas de DNA. Os genes supressores que atuam como sensíveis marcadores tumorais são os genes BRCA1 e BRCA2.

2. cromossomopatias - ocorrem com mais frequência em células tumorais e se devem, entre outras causas, à quebra de cromossomos com formação de genes quiméricos que passam a atuar como oncogenes, como é o caso do gene BCR/ABL. Um outro tipo de cromossomopatia é causado por aberrações cromossômicas, ou aneuploidia, fatos que acometem os cromossomos 3, 7, 17 e 21. Por fim, mutações na enzima telomerase aumentam a espessura dos telômeros nos cromossomos de alguns tipos de células tumorais e prolonga o tempo da vida dessas células.

3. produtos celulares - proteínas e enzimas sintetizadas em altas concentrações podem estar relacionadas com a presença de células tumorais.

Entre os exemplos mais conhecidos destacam-se a enzima enolase neurônio-específica (NSE), as proteínas S100, o fragmento da proteína cito-queratina (CYFRA 21.1), a desidrogenase láctica (LDH), a proteína p 53, a proteína PD-L1, as fosfatases alcalina e ácida, entre outros.

4. **antígenos celulares** - são sintetizados em altas concentrações por determinados tipos de células tumorais, por exemplo: PSA, CA15-3, CA 19.9, CA 50, CA125, CEA, BTA, MCA, entre outros.

5. **proteínas do sistema imune** - quando produzidas de forma anormal, qualitativa ou quantitativamente por células do sistema imune dão origem, por exemplo, às imunoglobulinas anormais (gamopatias) do mieloma múltiplo, e às proteínas PD-L1 sintetizadas por linfócitos T CD8 e que atuam na destruição de células tumorais presentes em focos inflamatórios pré-cancerosos.

6. **hormônios** – alguns hormônios estão associados ao crescimento tumoral e suas concentrações passam a ter relativas importâncias no auxílio de diagnóstico e no controle terapêutico. Os hormônios com essas características são os seguintes: calcitonina, hormônios ectópicos, catecolaminas e seus metabólitos, e gonadotrofina coriônica humana (β-HCG), principalmente.

7. **antígenos de superfície celular** - são grupos de proteínas, carboidratos e açúcares que desempenham funções de antígenos de superfície celular. Os detalhes científicos sobre esses antígenos e suas aplicações são apresentados no item **Marcadores de neoplasias hematológica**.

A figura 5 mostra a foto de uma célula tumoral obtida por microscopia eletrônica plana de alta resolução e modificada por meio de resplandescência computacional para enfatizar visualmente seus produtos citoplasmáticos e nucleares. Esses produtos são, em sua maioria, proteínas e enzimas, e estão sendo estudados na *proteômica* para atuarem como

marcadores tumorais.

Ao finalizar a introdução desse capítulo, informamos que na sequência apresentaremos 44 marcadores tumorais usados com mais frequência na oncologia e que atuam no auxílio ao diagnóstico, na determinação do tipo de tratamento, na avaliação do prognóstico e na monitoração de recorrência do tumor em pelo menos 36 tipos diferentes de câncer que compõem cerca de 90% de todos os tipos de câncer, dos quais 17 estão expostos na tabela 3. São apresentados, também, 45 marcadores de neoplasias hematológicas que diferenciam leucemias e linfomas.

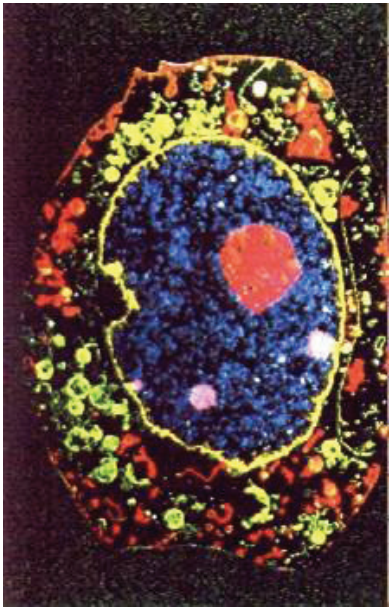


Figura 5
Foto original de uma célula em microscopia eletrônica plana e adaptada por resplandescência computacional. Destacam-se três estruturas bem definidas: o **citoplasma** delimitado pela membrana citoplasmática descontínua e pela membrana nuclear de cor amarela. Observam-se vários produtos citoplasmáticos de cores amarela, vermelha e verde; o **núcleo** com a cor azul está circundado pela membrana nuclear identificada com a cor amarela; o **nucléolo**, dentro do núcleo, está caracterizado por uma estrutura circular e seus componentes internos. Todos esses produtos coloridos são diferentes tipos de proteínas e enzimas, alguns dos quais já foram isolados para atuarem como marcadores tumorais. Entretanto, com a tecnologia da proteômica será possível identificar quais os melhores marcadores tumorais para células tumorais de tumores específicos.

PRINCIPAIS MARCADORES TUMORAIS EM USO CLÍNICO E LABORATORIAL

1. ALK

Significado:	**A**naplastic **L**ymphoma **K**inase.
Estrutura biológica:	gene, com função de oncogene.
Alteração pesquisada:	rearranjo (1) e hiperexpressão do gene ALK.
Tipos de câncer:	linfoma anaplástico de células grande (2), câncer de pulmão de não pequenas células (3) e outros (tabela 4).
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação médica:	auxílio na determinação do tipo de tratamento e prognóstico da doença.
Interferentes:	não há.
Observações:	(1) inversão e translocação do braço curto do cromossomo 2; (2) 60 a 65% de positividade; (3) 3 a 4% de positividade (12).

Tabela 4: Lista de tumores que expressam alterações do gene ALK

Tumores	Tipos de alterações de ALK
Linfoma anaplástico de células grandes	Inversão do braço curto do cromossomo 2. Translocação em 2p com fusão de genes EML4-ALK
Câncer de pulmão de não pequenas células	Translocação cromossômica ALK- Nucleoformina(2;5)
Carcinoma de célula basal	Hiperexpressão de ALK
Câncer de mama	Fusão de genes EML4-ALK
Neuroblastoma	Hiperexpressão de ALK
Carcinoma colo-retal	Fusão de genes EML4-ALK
Tumor miofibroblástico Inflamatório	Várias translocações com fusões de genes
Linfoma difuso de células grandes do tipo B	Várias translocações com fusões de genes
Glioblastoma	Hiperexpressão de ALK
Carcinomal renal	Várias translocações com fusões de genes
Carcinoma da célula escamosa esofágica	Fusão TPM4-ALK
Câncer de ovário	Hiperexpressão de ALK
Melanoma	Hiperexpressão de ALK
Retinoblastoma	Elevação de RNAm de ALK
Plasmocitoma extramedular	Hiperexpressão de ALK

Fonte: Shackelford RE et al., 2015 (13)

2. HER-2

Significado:	**H**uman **E**pidermal growth fator **R**eceptor-**2**.
Estrutura biológica:	gene, com função de oncogene.
Alteração pesquisada:	hiperexpressão (ou amplificação) do gene Her-2.
Tipos de câncer:	câncer de mama[(1)], câncer gástrico[(2)] e adenocarcinoma da junção gastroesofágica.
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	determinar se o tratamento com um tipo específico de terapia alvo é apropriado ao paciente.
Interferência:	não há.
Observações:	[(1)] 20% de positividade (14); [(2)] 27% de positividade (15).

3. EGFR

Significado:	**E**pidermal **G**rowth **F**actor **R**eceptor.
Estrutura biológica:	gene, com função de oncogene.
Alteração pesquisada:	hiperexpressão (ou amplificação) do gene EGFR.
Tipos de câncer:	câncer de pulmão de não pequenas células[(1)].
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	determinar se o tratamento com um tipo específico de terapia alvo é apropriado ao paciente, bem como na avaliação do prognóstico da doença.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)]>60% de positividade (16).

4. BRAF V600

Significado:	**B** protein of **R**apidly **A**ccelerated **F**ibrosarcoma **V**aline originada pela mutação (substituição) do aminoácido Valina por ácido glutâmico na posição **600** da proteína Raf.
Estrutura biológica:	gene, com função de oncogene.
Alteração pesquisada:	mutação de V600 no gene BRAF.
Tipos de câncer:	melanoma cutâneo(1) e câncer colo-retal.
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	identificação de portadores da mutação V600 que poderiam ser beneficiados com terapia-alvo.
Interferentes:	não há.
Observação:	(1) 50% de positividade (17).

5. K-Ras

Significado:	proteína **K- Ra**ts **s**arcome.
Estrutura biológica:	gene, com função de oncogene.
Alteração pesquisada:	hiperexpressão das ações sinalizadoras de Ras (18).
Tipos de câncer:	câncer colo-retal(1) e câncer de pulmão de não pequenas células(2).
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	detectar se o tratamento com um determinado tipo de terapia alvo é apropriado ao paciente.
Interferentes:	não há.
Observações:	(1) 30 a 40% de positividade (18); (2) 15 a 25% de positividade (19).

6. BRCA 1/BRAC2

Significado:	**Br**east **Ca**ncer do tipo **1**/ tipo **2**
Estrutura biológica:	genes, com funções de genes supressores.
Alteração pesquisada:	hipoexpressão dos genes BRCA1 e BRCA2(1)
Tipos de câncer:	câncer de ovário(2)
Tecido analisado:	sangue
Aplicação oncológica:	determinar se o tratamento com um tipo específico de terapia alvo é apropriado ao paciente.
Interferentes:	não há.
Observações:	(1) a hipoexpressão desses genes supressores prejudica o reparo do DNA defeituoso e diminui a indução à morte da célula tumoral (apoptose); (2) 43% de positividade (35% para BRCA1 e 8% para BRCA2) em pessoas com história familiar de câncer ovariano (20).

7. Fusão de genes BCR/ABL

Significado:	BCR: **B**reackpoint **C**luster **R**egion/ ABL: **Ab**elson **L**eukemia Vírus.
Estrutura biológica:	cromossomo com translocação e produção de cromossomo anormal (Ph) que contém genes quiméricos BCR/ABL.
Alteração pesquisada:	presença do cromossomo Philadelphia (Ph).
Tipos de câncer:	leucemia mielóide crônica(1), leucemia linfoblástica aguda(2), leucemia mielóide aguda.
Tecido analisado:	sangue e/ou medula óssea.
Aplicação oncológica:	para confirmar diagnóstico, avaliar resposta à terapia alvo e monitorar a evolução da doença.
Interferentes:	não há.
Observações:	(1) 95% de positividade; (2) 25 a 30% de positividade em adultos e 2 a 10% em crianças (21).

8. Cromossomos 3, 7, 17 e 9p21

Estrutura biológica:	cromossomos.
Alteração pesquisada:	aberrações cromossômicas (aneuploidia).
Tipos de câncer:	câncer de bexiga [(1)].
Tecido analisado:	urina [(2)].
Aplicação oncológica:	auxiliar a monitoração da recorrência do tumor.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 85% de positividade na avaliação conjunta dos cromossomos (22); [(2)] Pesquisa citogenética por hibridização *in situ* por meio da técnica de fluorescência (FISH) em urina com hematúria.

9. Telomerase

Estrutura biológica:	cromossomos.
Alteração pesquisada:	concentração de ribonucleina que envolve os cromossomos (telomerase)[(1)].
Tipos de câncer:	câncer de bexiga.
Tecido analisado:	urina.
Aplicação oncológica:	confirmar diagnóstico[(2)] e monitoração da recorrência do tumor.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] biologia molecular de PCR em tempo real com o uso de transcriptase reversa de telômero humano (hTERT); [(2)] 70 a 80% de positividade (23).

10. NSE

Significado:	**N**euron **S**pecific **E**nolase.
Estrutura biológica:	enzima.
Alteração pesquisada:	concentração de NSE.
Tipos de câncer:	câncer de pulmão de pequenas células [(1)] e neuroblastoma [(2)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicação oncológica:	auxiliar no diagnóstico e avaliar a resposta ao tratamento.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 90% de positividade em câncer avançado, 60% em carcinoides e 40% em câncer de ilhotas celulares (24); [(2)] não se conhece a positividade exata (25).

11. S100

Significado:	**S**oluble proteins **100**
Estrutura biológica:	grupo de proteínas que se ligam ao cálcio e são subdivididas em S100A1, S100A4....S100A12.
Alteração pesquisada:	concentração de S100.
Tipos de câncer:	melanoma cutâneo[(1)], câncer colo-retal[(2)], sarcomas[(3)], astrocitomas[(3)], tumor estromal[(3)] e câncer gastrointestinal[(3)].
Tecido analisado:	sangue
Aplicação oncológica:	auxiliar no diagnóstico.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 51% de positividade (26); [(2)] A expressão elevada da proteína S100A4 está associada com metástases nos linfonodos (27); [(3)] Ainda não se conhece os graus de positividade.

12. CYFRA 21.1

Significado:	**Cy**tokeratin **Fra**gments.
Estrutura biológica:	proteínas.
Alteração pesquisada:	concentração de CYFRA 21.1
Tipos de câncer:	câncer de pulmão[(1)], câncer de mama[(2)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicação oncológica:	auxiliar na monitoração de recorrência do tumor.
Interferentes:	patologias não malignas do pulmão e da mama.
Observações:	[(1)] próximo de 100% de positividade, incluindo os carcinomas de células escamosas e de pequenas células do pulmão (28); [(2)] 80 a 84% de positividade na recorrência do tumor de mama (29).

13. LDH

Significado:	**L**actic **deh**ydrogenase.
Estrutura biológica:	enzima.
Alteração pesquisada:	concentração de LDH.
Tipos de câncer:	vários tipos de câncer [(1)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicação oncológica:	auxiliar na monitoração da recorrência do tumor[(2)].
Interferentes:	hepatite, ataque cardíaco, anemias hemolíticas, lesões musculares, drogas (aspirina, narcóticos, álcool, anestésicos).
Observações:	[(1)] altas concentrações de LDH estão relacionadas com excessiva destruição de tecidos normais por metástase tumorais; [(2)] aumento de risco de morte em câncer de próstata, pulmão, colo-retal, gastro-esofágico, ginecológicos e neoplasias hematológicas (30).

14. p 53

Significado:	**p**roteína **53**
Estrutura biológica:	proteína
Alteração pesquisada:	concentração da proteina p 53[1]
Tipos de câncer:	câncer esofágico, câncer colo-retal, câncer do pâncreas, carcinoma hepatocelular e câncer de mama[2].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicação oncológica:	auxiliar no diagnóstico e monitoração do tratamento, especialmente nos estágios iniciais do crescimento do tumor.
Interferentes:	não há.
Observações:	[1] p 53 é uma proteína sintetizada pelo gene p 53 que induz a apoptose (ou morte programada) das células, notadamente das tumorais. A diminuição da síntese de p 53 ocorre em cerca de 50% de todos os câncer, com diferentes graus de sensibilidade analítica quando avaliada por teste imunológico com anticorpo monoclonal anti-p53, que está disponível como marcador tumoral; [2] 23 a 68% de positividade, com baixa sensibilidade para carcinoma hepatocelular e câncer de mama (31).

15. NMP 22

Significado:	**N**uclear **M**atrix **P**rotein **22**.
Estrutura biológica:	proteína
Alteração pesquisada:	concentração de NMP22.
Tipos de câncer:	câncer de bexiga[1].
Tecido analisado:	urina.
Aplicação oncológica:	monitorar resposta ao tratamento[2].
Interferentes:	não há.
Observações:	[1] 78% de positividade; [2] recidiva do tumor e metástase elevam a NMP22 (32).

16. 5-Protein signature (OVA 1®)

Significado:	Identificação específica da **P**roteina **5**(**Ova**rian **ca**ncer **1**)
Estrutura biológica:	proteínas microfibrilares que regulam as células endoteliais.
Alteração pesquisada:	avaliação de cinco proteínas diferentes cujos resultados representam positividade ou negatividade da presença de massa tumoral.
Tipos de câncer:	câncer de ovário[(1)].
Tecido analisado:	sangue, fluidos peritonial e ascítico.
Aplicação oncológica:	prospecção pré-cirúrgica de massa pélvica suspeita de câncer de ovário.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 95% de positividade (33,34).

17. Catepsina D - Endoproteinase

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	enzima[(1)].
Alteração pesquisada:	concentração de catepsina D.
Tipos de câncer:	câncer de mama.
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	avaliação de câncer de mama com pior prognóstico.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] é provável que a elevação da catepsina D degrade os proteoglicanos da matriz da membrana basal facilitando a angiogênese e metástase (35).

18. M2PK

Significado:	**M2**-isoform of **P**yruvate **K**inase
Estrutura biológica:	enzima.
Alteração pesquisada:	concentração de M2PK.
Tipos de câncer:	câncer colo-retal[(1)].
Tecido analisado:	fezes.
Aplicações oncológicas:	monitoração do tratamento do tumor.
Interferentes:	sangramento intestinal.
Observações:	[(1)] 90% de positividade (36).

19. HE-4

Significado:	**H**uman **E**pididymis protein-**4**.
Estrutura biológica:	proteína.
Alteração pesquisada:	positividade para presença da proteína HE-4[(1)].
Tipos de câncer:	câncer de ovário.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	planejar o tratamento do câncer, avaliar a progressão da doença e monitorar a recorrência.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] a avaliação da positividade de He-4 em conjunto com a elevação de CA-125 atinge 95% de sensibilidade clínica para as aplicações oncológicas (37).

20. Cromagranina A

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	proteína.
Alteração pesquisada:	concentração de cromagranina A.
Tipos de câncer:	tumores neuroendócrinos [(1) (2)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar no diagnóstico, avaliar a resposta ao tratamento e monitorar possibilidade de recorrência do tumor.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] feocromocitoma, síndrome carcinoide, carcinoma medular da tireoide, adenoma hipofisário, carcinoma das ilhotas do pâncreas e neoplasias endócrinas múltiplas; [(2)] 50% de positividade em tumores neuroendócrinos (38).

21. Beta-2 microglobulina

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	proteína.
Alteração pesquisada:	concentração de beta-2 microglobulina.
Tipos de câncer:	mieloma múltiplo, leucemia linfocítica crônica e alguns linfomas.
Tecido analisado:	sangue, urina e fluido cérebro-espinal.
Aplicações oncológicas:	determinar o prognóstico da doença e monitorar resposta ao tratamento.
Interferentes:	citomegalovírus (39).
Observações:	não há.

22. SMRP

Significado:	**S**oluble **M**esothelin **R**elated **P**eptide.
Estrutura biológica:	peptídeo.
Alteração pesquisada:	concentração de SMRP.
Tipo de câncer:	câncer epitelial do ovário[(1)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico e monitorar a resposta ao tratamento.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 82% de positividade; quando associado com CA 125 a positividade é de 98,4% (40).

23. TdT

Significado:	**T**erminal **d**eoxynucleotidyl **T**ransferase.
Estrutura biológica:	enzima (DNA polimerase).
Alteração pesquisada:	expressão da enzima[(1)].
Tipo de câncer:	leucemias[(2)], linfomas e câncer de células Merkel[(3)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar no diagnóstico e monitorar pacientes transplantados.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] Informações mais completas em "Marcadores de neoplasias hematológicas;[(2)] negativo na LMA-M (41); [(3)] carcinoma neuroendócrino de pele raro e agressivo com 80% de positividade (42).

24. Fibrina/Fibrinogênio (FDP)

Significado:	**F**ibrin **D**egradation **P**roducts.
Estrutura biológica:	proteínas.
Alteração pesquisada:	produtos de degradação de fibrina e fibrinogênio[(1)].
Tipo de câncer:	câncer de bexiga.
Tecido analisado:	urina.
Aplicações oncológicas:	monitorar resposta ao tratamento e progressão do tumor.
Interferentes:	inflamações no trato urinário.
Observações:	[(1)] esses produtos estão ausentes ou em baixas concentrações em pessoas saudáveis, mas elevados naquelas com câncer de bexiga (43).

25. KI 67

Significado:	proteína histônica de número 67.
Estrutura biológica:	proteína[(1)].
Alteração analisada:	maior expressão de KI-76 na amostra tumoral.
Tipos de câncer:	câncer de mama e câncer de próstata.
Tecido analisado:	tumor.
Aplicações oncológicas:	*câncer de mama*: específico ao prognóstico de tumor de mama RE positivo e grau histológico 2 (44); *câncer de próstata*: avaliação de prognóstico (45).
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] proteína nuclear que indica o grau de proliferação celular e é identificada através do anticorpo monoclonal MIB-1.

26. Fosfatase Alcalina

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	enzima.
Alteração analisada:	concentração da fosfatase alcalina.
Tipos de câncer:	câncer ósseo, câncer hepático.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	avaliação da presença de metástases óssea e hepática[(1)].
Interferentes:	doenças não malignas dos ossos e fígado.
Observações:	[(1)] metástases provenientes de tumores primários de câncer de próstata, câncer de mama, leucemias e sarcoma, entre outros (46).

27. Fosfatase ácida

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	enzimas
Alteração analisada:	concentração da fosfatase ácida.
Tipos de câncer:	câncer de próstata
Tecido analisado:	sangue
Aplicações oncológicas:	monitorar a evolução de câncer de próstata[(1)].
Interferentes:	várias doenças, por exemplo, doença de Paget, hiperplasia da próstata, doenças de Gaucher e Niemann Pick, etc.
Observações:	[(1)]pacientes com câncer de próstata com células tumorais confinadas dentro da cápsula (tumor primário) geralmente têm níveis normais de fosfatase ácida, porém, em casos de metástases, mais de 50% dos pacientes com câncer de próstata a têm elevada (46).

28. AFP

Significado:	**A**lpha-**F**eto **P**rotein.
Estrutura biológica:	proteína.
Alteração pesquisada:	concentração de AFP.
Tipos de câncer:	câncer de fígado[(1)] e tumores de células germinais (ovário e testículo).
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico e monitorar o tratamento de câncer de fígado; avaliar o estágio, o prognóstico e a resposta ao tratamento dos tumores de células germinais.
Interferentes:	gestação, hepatite e cirrose.
Observações:	[(1)] 70% de positividade (47).

29. PSA

Significado:	**P**rostatic **S**pecific **A**ntigen
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de PSA.
Tipos de câncer:	câncer de próstata[(1)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar no diagnóstico, avaliar a resposta ao tratamento e monitorar a recorrência do tumor.
Interferentes:	prostatite, hiperplasia benigna, trauma e manipulação da próstata, ejaculação.
Observação:	[(1)] há controvérsias científicas na interpretação de resultados; por exemplo, há pesquisas que apontam 40% de positividade (48) e outras que indicam 83% (49).

30. CA 15-3

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **15-3**.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de CA 15-3.
Tipos de câncer:	câncer de mama[(1)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	avaliar a resposta ao tratamento e monitorar a possiblidade de recorrência do tumor
Interferentes:	hepatite crônica, tuberculose, Lupus eritematoso sistêmico e sarcoidose.
Observações:	[(1)] bom marcador para avaliação de câncer de mama, mas tem baixa sensibilidade no início da doença (46, 50).

31. CA 27.29

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **27.29.**
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de Ca 27.29.
Tipos de câncer:	mama[(1)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	monitorar a eficiência do tratamento.
Interferentes:	não há.
Observações.	[(1)] menos sensível que o CA 15-3, mas com boa relação entre sua concentração e atividade da doença (50).

32. CA 19-9

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **19-9**.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de CA 19-9.
Tipos de câncer:	câncer de pâncreas[(1)], câncer de vesícula e duto biliar, e câncer de estômago.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	monitorar a eficiência do tratamento.
Interferentes:	cirrose hepática, pancreatite, doença inflamatória intestinal e doenças autoimune.
Observações:	[(1)] 70 a 90% de positividade (6, 50).

33. CA 50

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **50**.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de CA-50
Tipos de câncer:	câncer de pâncreas[(1)] e câncer gastrointestinal.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	monitorar a eficiência do tratamento[(2)].
Interferentes:	doenças hepáticas e biliares, e pancreatite.
Observações:	[(1)] 80 a 95% de positividade; [(2)] por ter sensibilidade e especificidade similares ao do CA 19-9, não há necessidade de usá-lo quando se avalia o CA 19-9 (51).

34. CA 72-4[1]

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **72-4**.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	elevação da concentração de CA 72-4[1][2].
Tipos de câncer:	câncer do sistema digestivo[3] e câncer de ovário.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar no controle de remissão e recidivas do câncer.
Interferentes:	hepatopatias, pancreatite, inflamações gastrointestinais.
Observações:	[1] também conhecido por TAG 72; [2] mais sensível que o CEA e CA 19-9; [3] inclui os seguintes tipos de câncer: cólon, estômago, pâncreas e trato digestivo (52).

35. CA 125

Significado:	**C**arbohydrate **A**ntigen **125**.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de CA 125.
Tipos de câncer:	câncer de ovário[1].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico, seguimento da resposta ao tratamento e predizer a recorrência do tumor.
Interferentes:	cirrose hepática, cistos de ovário, endometriose, hepatite, pancreatite.
Observações:	[1] 80 a 95% de positividade (6, 50).

36. CEA

Significado:	**C**arcino **E**mbyonic **A**ntigen
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de CEA.
Tipos de câncer:	câncer colo-retal[(1)] e vários tipos de câncer[(2)(3)].
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	avaliar a eficiência do tratamento e monitorar a recorrência do tumor.
Interferentes:	tabagismo, doença de Crohn, hepatopatias, insufuciência renal.
Observações:	[(1)] 90 a 95% de positividade; [(2)] 40 a 47% de positividade (47); [(3)] ver tabela 3.

37. MCA

Significado:	**M**ucin-like **C**arcinoma associated **A**ntigen.
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de MCA.
Tipos de câncer:	câncer de mama[(1)], câncer de ovário, câncer de colo uterino, câncer de endométrio e câncer de próstata.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológica:	câncer de mama com metástase[(2)] [(3)].
Interferentes:	gestação e doenças benignas da mama.
Observações:	[(1)] é a principal aplicação deste marcador; [(2)] seus resultados tem correlação com CA 15-3; [(3)] 60% de positividade para câncer de mama recorrente (53).

38. SCC-Ag

Significado:	**S**quamous **C**ell **C**arcinoma-**Antigen**
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de SCC-Ag.
Tipos de câncer:	câncer de cabeça e pescoço (células escamosas).
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar no diagnóstico e monitoração do tumor[(1)]
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] 83% de positividade (54).

39. BTA

Significado:	**B**ladder **T**umor **A**ntigen
Estrutura biológica:	antígeno.
Alteração pesquisada:	concentração de BTA.
Tipos de câncer:	câncer de bexiga.
Tecido analisado:	urina.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico[(1)], monitorar a resposta ao tratamento e a recorrência do tumor.
Interferentes:	litíase urinária, irritação da bexiga, sonda vesical por período longo.
Observações:	[(1)] 40 a 90% de positividade (6, 50).

40. PD-L1

Significado:	**P**rogramed **D**eath - **L**igand **1**.
Estrutura biológica:	proteína do sistema imunológico.
Alteração pesquisada:	PD-L1 é uma proteína existente nos linfócitos T que, ao ser ativada, induz a morte dessas células. Células tumorais de alguns tipos de câncer se especializaram em produzir proteínas estimuladoras de PD-L1 e, assim, causam a morte de linfócitos citotóxicos, tornando os tumores mais agressivos devido à diminuição da imunidade celular do paciente. A alteração pesquisada busca saber se as células tumorais estão ativando PD-L1 e tornando-a com concentração elevada.
Tipos de câncer:	câncer de pulmão de não pequenas células, melanoma, câncer de rim e câncer de bexiga, entre outros.
Tecido analisado:	tumor.
Aplicação oncológica:	determinar se a terapia com imunoterapia específica anti-PD-L1 está beneficiando o paciente (55).
Interferentes:	não há.
Observações:	não há.

42. Imunoglobulinas

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	proteínas do sistema imunológico.
Alteração pesquisada:	elevações das concentrações de globulinas γ ou β com traçado eletroforético ou cromatográfico do tipo monoclonal[(1)] ou biclonal.
Tipos de câncer:	mieloma múltiplo e macroglobulinemia de Waldstron.
Tecido analisado:	sangue e urina.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico, avaliar resposta ao tratamento e monitorar a recorrência do tumor.
Interferentes:	não há.
Observações:	[(1)] as gamopatias monoclonais são mais frequentes que as biclonais (5, 56).

43. β-HCG

Significado:	**β-H**uman **C**horionic **G**onadotrophin.
Estrutura biológica:	hormônio.
Alteração pesquisada:	elevação da concentração de β-HCG.
Tipos de câncer:	coriocarcinoma e tumores de células germinais (testículo e ovário)[1].
Tecido analisado:	sangue e urina.
Aplicações oncológicas:	avaliar o estágio, o prognóstico e a resposta ao tratamento.
Interferentes:	gestação.
Observações:	[1] 90 a 100% de positividade (6, 9, 46).

44. Calcitonina

Significado:	não há.
Estrutura biológica:	hormônio.
Alteração pesquisada:	elevação da concentração de Calcitonina.
Tipos de câncer:	câncer medular da tireóide.
Tecido analisado:	sangue.
Aplicações oncológicas:	auxiliar o diagnóstico, avaliar a resposta ao tratamento e monitorar a possibilidade de recorrência do tumor[1].
Interferentes:	anticorpos heterofilicos.
Observações:	[1] 90% de positividade (57).

MARCADORES DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Os marcadores de neoplasias hematológicas foram gradualmente desenvolvidos à medida que os conhecimentos e as aplicações de novos anticorpos monoclonais eram descobertos. Como se sabe, os anticorpos monoclonais disponíveis para o emprego em análises laboratoriais reagem com antígenos celulares de membrana citoplasmática e identificam diferenças moleculares de células morfologicamente semelhantes. Este tipo de avaliação, conhecido como imunofenotipagem celular, facilitou, num primeiro momento, a realização de diagnósticos diferenciais para doenças complexas como leucemias e linfomas. Com o surgimento da citometria de fluxo e suas amplas aplicações foi possível especificar diversidades celulares através de seus tamanhos, da quantidade e qualidade de grânulos citoplasmáticos e, por fim, dos componentes nucleares. A multiplicidade de informações dessas características celulares identificou até o presente cerca de 300 tipos de **CD**, ou *Cluster of Differentiation*, cujo significado em português é *grupos de antígenos que diferenciam células semelhantes*. As primeiras células identificadas por essas tecnologias complementares foram os linfócitos T CD4 e CD8, usadas notadamente para monitorar pacientes portadores de vírus HIV. Na sequência de suas aplicações na clínica médica, outras técnicas laboratoriais de imunofenotipagem e de citometria de fluxo foram desenvolvidas para identificar e quantificar células tronco hematopoiéticas em pacientes submetidos a transplantes de medula. Resultante de toda essa evolução tecnológica surgiram, em seguida, os marcadores imunológicos de neoplasias hematológicas, direcionadas para células que se mostravam citologicamente semelhantes, por exemplo, em leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mielóide aguda (LMA), linfomas não-Hodgkin, entre outros. Atualmente o uso desses marcadores está muito diversificado e suas aplicações tem sido úteis para determinar o grau de gravidade clínica de algumas neoplasias hematológicas, bem como monitorar a recorrência da doença. Apresentaremos, a seguir, tabelas ilustrativas dos principais marcadores de neoplasias hematológicas, incluindo principalmente os imunológicos e os citogenéticos, para a diferenciação laboratorial dos tipos de LLA de células B ou LLA-B (tabela 5),

LLA de células T ou LLA-T (tabela 6), diagnóstico diferencial de doenças linfoproliferativas crônicas (tabela 7), diagnóstico diferencial dos diversos tipos de LMA (tabela 8), e diagnóstico diferencial de linfomas por meio de alterações citogenéticas e expressão de oncogenes (tabela 9) (6, 50, 58).

Tabela 5: Marcadores de neoplasias hematológicas usados para cinco tipos diferentes de Leucemia Linfóide Aguda de células B, ou LLA-B.

Tipos de LLA-B	CD19	HLA-DR(1)	TdT(2)	CD10	CD20	Ig ct(3)	Ig sp(4)
Pró-B	+	+	+	-	-	-	-
B-comum	+	+	+	+	+/-	-	-
Pré-B	+	+	+	+	+/-	+	-
Pré-B/B	+	+	+	+	+/-	+	+
B-matura	+	+	+/-	+/-	+	-	+

(1) HLA-DR – antígeno leucocitário humano ligado ao antígeno D; (2) TdT –transferase deoxitidil terminal; (3) Ig ct – translocação cromossômica (ct) entre os genes de imunoglobulinas (Ig); (4) Ig sp – células simples positiva (sp) identificadas com imunoglobulinas (Ig).

Tabela 6: Marcadores de neoplasias hematológicas usados para quatro tipos diferentes de Leucemia Linfóide Aguda de células T, ou LLA-T.

Tipos de LLA-T	TdT/CD3	CD5/CD7	CD2	CD1	CD4/8
Pró-T	+	+	-	-	-
T-Precoce	+	+	+	-	-
T-Intermediária	+	+	+	+	CD4 e CD8
T- Tardia	+	+	+	-	CD4 e CD8

Tabela 7: Marcadores de neoplasias hematológicas para doenças linfoproliferativas crônicas.

Tipos de neoplasias	IgS	IgC	CD5	CD10	CD23	CD43
LLC[(1)]	+	+/-	+	-	+	+
Plasmático[(2)]	+	+	-	-	-	+/-
Manto[(2)]	+	-	+	+/-	-	+
Folicular[(2)]	+	-	-	+/-	+/-	-
Zona Marginal[(2)]	+	+/-	-	-	+/-	+/-

[(1)] Leucemia linfóide crônica; [(2)] Linfomas.

Tabela 8: Alguns dos principais marcadores de neoplasias hematológicas para diferenciar os oito tipos citológicos de leucemias mielóides agudas (LMA).

Tipos de LMA	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
HLA-DR	+	+	+	-	+	+	+/-	+
CD33	+/-	+	+	+	+	+	+/-	+/-
CD15	-	-	+	+/-	+	+	-	-
CD13	+	+	+	+	+	+/-	+/-	-
CD11b	-	+/-	+/-	-	+	+	+/-	-
CD34	+	+	-	-	+/-	+/-	+/-	+
CD117	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+	+
CD14	-	-	-	-	+	+	-	-
TdT	+	+	-	-	-	-	-	-

+ integralmente positivo; - integralmente negativo; + parcialmente positivo; - parcialmente negativo;+/- integralmente positivo ou integralmente negativo

Tabela 9: Marcadores específicos para diferenciação de linfomas

Tipos de linfomas	Alterações citogenéticas	Expressões de oncogenes
LLC/Linfomas de céls. pequenas	t(14;15) (q32;q13)	ATM
MALT	t(11;18) (q21;q21)	API12/MLT
Células do manto	t(11;14) (q13;q32)	BCL-1/IgH
Folicular	t(14;18) (q32;q21)	BCL-2/IgH
Burkitt	t(8;–) (q24;–)	C-MYC
Difuso de grande células	t(3;–) (q27;–) t(17;–) (p13;–)	BCL-6 p53
Anaplásico de grandes células, CD30+	t(2;5) (p23;q35)	ALK
Linfoplasmocitóide	t(9;14) (q13;q32)	PAX-5

CONCLUSÃO

Muito se discute atualmente sobre as *vantagens* e *desvantagens* dos marcadores tumorais no uso clínico, apesar dos inúmeros benefícios obtidos e bem consolidados dos marcadores tradicionais, como são os casos, por exemplo, de PSA, CA-15 e CA 125, entre outros. Certamente a noção de *desvantagem* originou-se do descrédito das primeiras publicações sobre as inúmeras *vantagens* que os marcadores tumorais propiciariam na clínica e, inclusive, atuando como indicadores para diagnósticos preventivos de câncer. Infelizmente, houve certa decepção médica quando verificou-se que os marcadores tumorais também eram susceptíveis às incríveis mudanças perpetradas pelas células tumorais, fazendo com que alguns marcadores sensíveis e específicos para determinados tipos de câncer nem sempre se mostrassem com concentrações elevadas para aquele tipo de tumor. As causas que induzem as argumentações das *desvantagens* dos marcadores tumorais decorrem por algumas razões aqui resumidas: a) diversidades no consenso médico para o uso adequado dos marcadores tumorais; b) a não correspondência para algumas pessoas com determinado tipo de tumor

e os resultados de seus marcadores tumorais tidos como sensíveis e específicos; c) exposições mercadológicas enganosas que precederam o lançamento dos primeiros marcadores tumorais; d) a evolução na qualidade dos resultados dos diagnósticos de imagens, em que os tumores podem ser vistos pelos médicos e mostrados aos seus portadores. Mas há de se concordar que, apesar do crédito de alguns e do descrédito de outros, os marcadores tumorais mais consagrados pela oncologia têm sido fundamentais para auxiliar o médico no acompanhamento da evolução de tumores durante seus tratamentos, bem como para detectar com relativa precocidade e facilidade analítica situações conhecidas por recidiva tumoral ou retorno do tumor, quando comparado, por exemplo, com os resultados obtidos por imagens. Assim, a maior *vantagem* dos marcadores tumorais se destaca pelo fato dos mesmos serem detectados em fluidos corporais quando o tumor tem apenas dois milímetros de tamanho, enquanto que as modernas tecnologias de imagens o fazem quando o tumor tem cerca de quatro a seis milímetros de tamanho. Essa diferença de tamanho tem influência no tempo de evolução da doença, que ocorre entre meses a anos. Esse tempo é crucial para erradicar o tumor ou para impedi-lo de se tornar metastático. E essa é, ainda, a grande *vantagem* do uso racional dos marcadores tumorais em pacientes com câncer.

REFERÊNCIAS

1. KILPIVAARA O.; AALTONEN L.A. – Diagnostic cancer genome sequencing and contribution of germline variants. Science, 339: 1559-1562, 2013.
2. JONES H.B. – On a new substance occuring in the urine of a patient with mollities ossium. Philosophical Transactions of the Royal Society, 138: 56-62, 1848.
3. LIEBERMAN D.A.; WEISS D.G. – One-time screening for colorectal cancer with combined fecal ocult-blood testing and examination of the distal colon. N England J Med, 345:555-560, 2001.
4. NAOUM P.C. – Doenças que alteram os exames bioquímicos. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2009, 149p .
5. NAOUM P.C. – Eletroforeses: Hemoglobinopatias, proteínas sérica, lipoproteínas e DNA. São Paulo: Gen-Grupo editorial nacional/Livraria Santos Editora, 2012, 301p.
6. PERKINS G.L.; SLATER E.D.; GEORGANNE K. – Serum tumor markers. Am Fam Physician, 68:1075-1082, 2003.
7. NAOUM P.C. – Sinalização celular do câncer humano. Laes&Haes 36:54-76, 2015.
8. INCA. Incidência de câncer no Brasil: Estimativa 2014. Instituto Nacional do Câncer. www.inca.gov.br/rbc/n_60/v01/pdf/11
9. ALMEIDA J.R.C.; PEDROSA N.L.; LEITE J.B. – Marcadores tumorais: revisão de literatura. Revista Brasileira de Cancerologia, 53:305-316, 2007.
10. NAOUM P.C.; NAOUM F.A. – Câncer: Por que eu? São Paulo: All Print, 2012, 215p.
11. DELLAIRE G.; BERMAN J.; ARCECI R. – Cancer Genomics. From bench to personalized medicine. London: Elsevier, 2014, 494p.
12. IACONO D.; CHIARI R.; CRINÓ L; et al. – Future options for ALK-positive non-small cell lung cancer. Lungcancer, 87:211-219, 2015.
13. SHACKELFORD R.E; VORA M.; MAYHALL K. – ALK-rearrangements and testing methods in non-small cell lung cancer: a review. Genes Cancer, 5:1-14, 2014.
14. ONITILI A.A.; ENGEL J.M.; GREENLEE R.T. – Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her-2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. Clin Med Res, 7:4-13, 2009.
15. GRAVALOS C.; JIMENO A. – Her-2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. Annals of Oncology, 19:1523-1529, 2008.
16. CUNHA SANTOS G.; SHEPHERD F.A.; TSAO M.S. – EGFR mutations and lung cancer. Ann Rev Pathol 6:49-69, 2011.
17. ASCIERTO P.A.; KIRKWOOD J.M; GROB J.J. et al. – The role of BRAF V600 mutation in melanoma. J Transl Med, 10:85-90, 2012.
18. VAUGHN C.P.; ZOBELL S.D.; FURTADO L.V. – Frequency of K-Ras, BRAF and N-Ras mutations in colorectal cancer. Genes Chromosomes Cancer, 50:307-312, 2011.

19. RIELY G.J.; KRIS M.G.; ROSENBAUM D. – Frequency and distinctive spectrum K-Ras mutations in new smokers with lung adenocarcinoma. Clin Cancer Res, 14:5731-5734, 2008.

20. GIROLOMETTI G.; PERRONE A.M.; SANTINI D. – BRCA-Associated ovarian cancer from molecular genetics to risk management. Bio Med Research International, volume 2014, article ID 787143, 11 pages, http://dx.doi.org/101155/2014/78713.

21. NASHED A.L.; RAO K.W.; GULLEY M.L. – Clinical applications of BCR-ABL molecular testing in acute leukemia. J Mol Diagn, 5:63-72, 2003.

22. KRUGER S.; MESS F.; BOHLE A. – Numerical abberations of chromosome 17 and the 9p21 locus are independent predictors of tumor recurrence in non-invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Int J Oncol, 23:41-48, 2003.

23. MULLER M. – Telomerase: its clinical relevance in the diagnosis of bladder cancer. Oncogene, 21:650-655, 2002.

24. BURGHUBER O.C.; WOROFKA B.; SCHERNTHANER G. – Serum neuron-specific enolase is a useful tumor marker for small cell lung cancer. Cancer, 65;1386-1390, 1990.

25. RILEY R.D.; HENEY D.; JONES D.R. – A systematic review of molecular and biological tumor marker in neuroblastone. Clin Cancer Res, 10:4-12, 2004.

26. ORTIZ B.; VASQUEZ C.; MARTINEZ C. – S100 proteins as tumoral marker in melanoma patients. Comparative study with sentinel node biopsy and whole body FDG -PET. Rev Esp Med Nucl, 22:87-96, 2003.

27. BRESNICK A.R.; WEBER D.J.; ZIMMER D.B. – S100 proteins in cancer. Nature Reviews Cancer, 15:96-109, 2015.

28. BOMBARDINI E.; SEREGNI E.; BOGNI A. – Evaluation of cytokeratin 19 serum fragments (Cyfra 21.1) in patients with lung cancer: results of a multicenter trial. Int J Biol Markers, 9:89-95, 1994.

29. NAKATA B.; OGAWA T.T.; ISHIKAWA T. – Serum Cyfra 21.1 is a useful tumor marker for detecting disease relapse and assessing treatment efficacy in breast cancer. Br J Cancer, 91:873-878, 2004.

30. WULANINGSHI W.; HOLMBERG L.; GARMO – Testing for anti-p53 antibodies increases the diagnostic sensitivity of conventional tumor markers. Int J Oncol, 29:973-980, 2006.

31. ALLAN A; HATHOUT B.; ALNUSIF S. – Can use NMP22 bladder check decrease the frequency of cytoscopy in follow-up of patients with bladder carcinoma? Int J Nephrol Urol, 1:51-55, 2009.

32. TOSS A.; DE MATTEI E.; ROSSI E; et al. – Ovarian cancer: can proteomics give new insigths for therapy and diagnosis? Int J Mol Sci, 14:8271-8290, 2014.

33. BRISTOW R.E.; HODEIT M.; SMITH A. – Impact of a multivariate index assay on referral patterns for surgical management of an adnexal mass. Am J Obstet Gynecol, 209:581-588, 2013.

34. FOEKENS J.A.; LOOK M.P.; BOL-DE-VRIES J. – Cathepsin D in primary breast cancer: prognostic evaluation involving 2810 patients. Br J Cancer, 79:300-307, 2009.

35. HAUG U.; WENTE N.N.; BRENNER H. – Tumor M2PK as a stool marker for colorectal cancer: comparative analysis in a large sample of unselected older adults vs colorectal cancer patients. Br J Cancer, 96:1329-1334, 2007.

36. FERRARO S.; BRAGA F.; PANTEGHINI M. – Serum human Epididymis Protein 4 vs CA125 for ovarian cancer diagnosis. J Clin Pathol, 66:273-281, 2013.

37. NOBELS F.R.; LINDEMANS J.; LAMBERTS S.W. – Chromagranin A as a serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. J Clin Endocrinol Metab, 82:2622-2628, 1997.

38. GRUNDY J.E.; MCKEATING J.A.; SANDERSON A.R. – Cytomegalovirus and beta 2 microglobulin in urin specimens. Transplantation, 45:1075-1079, 1988.

39. WU X.; LI D.; LIU L; et al. – Serum soluble mesothelin-related protein (SMRP): a potential diagnostic and monitoring marker for epitelial ovarian cancer. Arch Gynecol Obstet, 289:1309-1314, 2014.

40. SIDROPOULOS M.; HANNA W.; GHORAB Z. – Carcinoma of cell Merkel and small cell lung carcinoma. Am J Clin Pathol, 135:831-838, 2011.

41. PATEL K.P.; KOKHAN F.A.; MEDEIROS J. – TdT expression. In acute myeloid leukemia with minimal differentiation is associated with distinctive clinicopathology features. Modern Pathol, 26:195-203, 2013.

42. TSIHLIAS J.; GROSSMAN H.D. – The utility of fibrin/fibrinogen degradation products in superficial bladder cancer. Urol Clin North Am, 27:39-46, 2000.

43. BUITRAGO F.; UEMURA G.; SENA MC.F. – Fatores prognósticos em câncer de mama. Com Ciências Saúde, 22 Sup 1: 569, 2011.

44. FISHER G.; YANG Z.H.; BERNEY M. – Prognostic value of KI-67 for prostate cancer death in a conservatively managed cohort. Br J Cancer, 108:271-277, 2013.

45. BRONSTEIN M.; CRUZ M.C. – Index Bronstein: Apoio Diagnóstico. São Paulo: Editora Sextante, 2001, 246p.

46. MAYO CLINIC- Alpha-Fetoprotein (AFP) tumor marker serum. Mayo Medical Clinic. www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog.

47. MISTRI K.; CABLE G. – Meta-analysis of PSA and digital examination as screening test for prostate carcinoma. J Am Board Fam Med, 16:1-5, 2003.

48. VUKOTIC V.; CEROVIC S.; KOZOMARE M. – The predictive value of PSA in diagnosis of prostate cancer in non screened population. Acta Chir Iugosl, 52:81-87, 2005.

49. BIGBEE W.; HERBERMEN R.B. – Tumor markers and immunodiagnosis. In: BAST R.C.Jr.; KUFE D.W.; POLLOCK R.E. et al. Editors. Cancer Medicine, 6th ed. Ontario, Canada: BC DECKER INC. 2003, 830p.

50. HAGLUND C.; KUUSELA P.; ROBERTS P.J. – Serum CA 50-5 as a tumor marker in pancreatic cancer: a comparison with CA19-9. Int J Cancer, 39: 477-481, 1987.

51. PIANTINO P. ;TACCONE W.; FUSARO A. – Significance of CA 72-4 serum levels in gastrointestinal disease . Int J Biol Markers, 5:77-80, 1990.

52. LAURENCE V.; FORBES M.A.; COOPER E.H. – Use of mucin like cancer associated

antigen (MCA) in the management of breast cancer. Br J Cancer, 63: 1000-1004, 1991.

53. ARIT A.; LUCKHAUPT H.; HILDMEN H. – Diagnosis of recurrences of head and neck carcinoma with tumor marker SSC-antigen. Laringorhinoologie, 97:207-212, 2000.

54. PATEL S.P.; KURZROCK R. – PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy. Mol Cancer Ther, 14:847-856, 2015.

55. SCHUSTER S.R.; RAJKUMAR S.U.; MIKHAEL, J. – IgM multiple myeloma: disease definition, prognosis and differentiation from Waldenstrom's macroglobulinemia. Am J Hematol, 85:853-855, 2010.

56. PAPAPETROU P.D.; KARGER H.; VAIOUPOULOS G. – Hetrophilic antibodies causing falsely high serun calcitonin values. J Endocriol Invest, 29:919-923, 2006.

57. DARK G.G. – Oncology at a glance. Oxford, UK. Wiley-Blackwell Publication, 2013, 132p.

CAPÍTULO 4

TERAPIAS ANTICÂNCER HUMANO E SEUS ALVOS NAS CÉLULAS TUMORAIS

Paulo Cesar Naoum
Flávio Augusto Naoum

INTRODUÇÃO

As terapias anticâncer com ênfase às suas ações contra as células tumorais são um dos conhecimentos mais complexos entre todos aqueles que compõem a biologia médica de forma geral e da biologia celular em particular. As dificuldades encontradas até o momento para o tratamento de tumores se devem, principalmente, à natureza das modificações que ocorrem nas células tumorais dos diferentes tipos de câncer, bem como dos dinâmicos processos que causam as transformações de células normais em tumorais (quadro 1). Amparados pelos conhecimentos que se dispõe atualmente nesta área do conhecimento, médicos e pesquisadores têm empregado diferentes estratégias com o objetivo de obter formas de tratamentos que resultam em benefícios temporários ou definitivos para o câncer humano. Apesar do câncer ser uma doença milenar, a busca de resoluções com bases científicas tem pouco mais de cem anos. O primeiro tipo de tratamento de câncer com fundamentação científica foi realizado no início do século passado por meio do uso do *radium*, elemento radioativo que deu origem à radioterapia. Em seguida, durante o período da Primeira Guerra Mundial (1914-1918), foram realizadas as primeiras experiências com o gás mostarda, um tipo de arma química que causava supressão celular na medula óssea das pessoas atingidas. Por essa razão, o gás mostarda foi usado como tratamento para pessoas com leucemias e linfomas após 1918, e esse evento pode ser considerado como o princípio da quimioterapia contra o câncer. Entretanto, o interesse pelas células do

câncer aumentou devido a um acontecimento inesperado que ocorreu em 1951 no Hospital Johns Hopkins de Baltimore, USA. Pesquisadores desse hospital descobriram que as células tumorais extraídas de um câncer de colo de útero de uma mulher, identificada como Henriette Lacks, tinham a capacidade de se reproduzirem continuamente, como se fossem imortais, em meios de culturas apropriados para esse fim. Suas células tumorais denominadas de HeLa, sigla extraída das letras iniciais do nome e sobrenome da doadora, impulsionaram importantes progressos científicos em testes terapêuticos contra os diversos tipos de câncer humano. Outro grande progresso no conhecimento das células tumorais ocorreu na década de 80 do século passado, quando tecnologias fundamentadas em conhecimentos sobre a composição molecular das células começaram a ser aplicadas com objetivos de interferir em reações químicas pontuais que alteram as sinalizações celulares. Entre essas tecnologias, a imunoterapia antitumoral obteve progressos excepcionais, com destaque para a modalidade terapêutica fundamentada na produção de anticorpos monoclonais dirigidos contra receptores transmembrana. O exemplo mais conhecido de imunoterapia antitumoral é a droga *Trastuzumab*, que atua bloqueando os receptores transmembrana Her-2, através dos quais penetram hormônios importantes para a vida das células tumorais das glândulas mamárias. Uma outra modalidade da imunoterapia é a dos imunomoduladores, desenvolvida no sentido de controlar as células que fazem a vigilância imunológica antitumoral. O exemplo de sucesso dessa modalidade terapêutica é a droga *Nivolumab*, que retarda a morte natural, ou apoptose, dos macrófagos. Os macrófagos do tipo M2, por exemplo, são importantes células da vigilância imunológica que atuam em tecidos inflamatórios tumorais no sentido de fagocitar as células tumorais, facilitando, assim, a ação complementar de outras terapias, como por exemplo, quimioterapia ou radioterapia, usadas para o tratamentos da maioria dos tumores (1, 2, 3).

Entre os projetos terapêuticos mais audaciosos que também tiveram início nas décadas de 80 e 90 do século passado, destacam-se as drogas produzidas pela bioengenharia médica. São drogas sintetizadas com componentes químicos com tamanhos, formas e especificidades desejadas

para bloquear ou regular diversos tipos de sinalizações tumorais, evitando, dessa forma, que células tumorais se proliferem indefinidamente. Entre os exemplos desses tipos de drogas destaca-se o *Tamoxifeno*, que atua como modulador seletivo de receptores de estrogênio, hormônio importante para o desenvolvimento das células glandulares da mama, normais ou tumorais. Entretanto o exemplo de sucesso da bioengenharia biomédica foi a produção da droga *Mesilato de Imatinibe*, usada no tratamento da leucemia mielóide crônica *cromossomo Philadelphia positivo (Ph+)*. Este tipo de leucemia se desenvolve por meio dos rompimentos de determinadas partes dos cromossomos 9 *(abl)* e 22 *(bcr)* e, em seguida, das junções entre as partes quebradas do cromossomo 9 com a do cromossomo 22 *(bcr-abl)*, formando um cromossomo híbrido anormal denominado por *Philadelphia positivo*. Essa junção de partes de diferentes cromossomos, conhecida por *translocação cromossômica*, faz com que se formam um gene quimérico identificado como *bcr-abl*. Este gene, com tendência funcional tumoral, produz, por sua vez, uma enzima do tipo *quinase* hiperativa que adiciona intensamente grupos fosfatos (fosforilação) às proteínas que têm o aminoácido *tirosina*. A fosforilação dessas proteínas gera contínua liberação de energia em forma de adenosina trifosfato (ATP), que induz algumas sinalizações celulares em leucócitos da medula óssea, notadamente as células imaturas precursoras de neutrófilos, a se dividirem sem controle. Destaca-se, entretanto, que o Mesilato de Imatinibe foi uma descoberta desencadeada por uma conjunção de achados científicos ao acaso. Primeiramente, em 1976, pesquisadores japoneses extraíram de bactérias marinhas *(Streptomyces staurosporeus)* uma proteína cuja molécula tinha forma em cruz de Malta desigual, e que recebeu a denominação de *estaurosporina*. Esse achado chamou a atenção para o fato de que essa molécula tinha a forma e tamanho similares aos das cavidades moleculares onde a maioria das enzimas *quinase* se acumulam para fosforilar tirosina e, assim, gerar energia em forma de ATP para sinalizar a divisão celular. A descoberta inspirou pesquisadores da indústria farmacêutica Ciba-Geise a produzir em laboratório uma droga *(Gleevec®)* feita com o sal de *Imatinibe* e com a estrutura espacial similar à da *eustaroporina*, porém com tamanho e forma adaptáveis às cavidades moleculares do oncogene

abl-bcr, onde ocorre a sinalização leucêmica das células precursoras de neutrófilos, os blastos mielóides. Por conta dessa descoberta, muitos pacientes com leucemia mielóide crônica, ao serem tratados com esta droga, podem viver livres da doença por longos períodos (3, 4). Pesquisas mais recentes e audaciosas estão sendo efetuadas por meio do uso da nanotecnologia e de nano-robôs, também conhecidos por *nano-partículas terapêuticas*. Projetadas para atuarem apenas contra as células tumorais de um determinado tumor, as nano-partículas são compostas por uma camada de polímeros biodegradáveis, contendo, em sua parte externa, produtos que se encaixam perfeitamente em receptores de membranas de células tumorais, e, em sua parte interna, um espaço para o transporte de drogas quimioterápicas com alvos citoplasmáticos ou nucleares definidos, capazes de destruírem apenas as células tumorais. Essa forma de terapia-alvo contra células tumorais ainda está em processo de experimentação clínica, mas a sua importância se destaca por preservar células normais do próprio tecido tumoral e de suas adjacências. Entretanto alguns problemas precisam ser resolvidos com relação às nanopartículas terapêuticas, notadamente com relação às formas de como essas nano-partículas seriam direcionadas para células tumorais e, em seguida, identificar que processos seriam necessários para retirar do corpo dos pacientes o "lixo" quimioterápico das células eliminadas.

Ao completar esse breve relato sobre o extraordinário desenvolvimento científico e tecnológico das terapias antitumorais, é importante destacar, também, as diversas estratégias médicas para diagnósticos precoces ou preventivos de tumores. Entre essas sobressaem as análises moleculares, imunológicas e de imagens, todas com especificidades definidas pelos oncologistas dos pacientes com câncer. Recentemente, com o auxílio da física médica, obteve-se progressos em análises de imagens que permitem identificar determinados tipos de metais em excesso, com destaque para o cobre, que se acumulam em certos tipos de tumores. Os resultados dessas análises facilitam, além do diagnóstico precoce e preventivo de alguns tipos de tumores, o acompanhamento do desempenho terapêutico de tumores primários e metastáticos submetidos aos diversos tratamentos exemplificados acima (5).

Quadro 1 - Cinco indicadores que explicam a complexidade da célula tumoral com impactos nas respostas terapêuticas.

1. A maioria dos cânceres humanos é causada por duas a oito alterações celulares sequentes durante um período entre 5 e 30 anos. Participam das transformações de células normais em tumorais cerca de 140 genes denominados de *genes Mut-drivers*.

2. Cada uma dessas alterações aumenta de forma direta ou indireta o tempo de vida da célula tumoral, promovendo, inclusive, vantagens seletivas, por meio de mecanismos epigenéticos. Participam da qualificação seletiva das células tumorais mais de 200 genes denominados de *genes Epi-drivers*.

3. Os *genes Mut-drivers* e *genes Epi-drivers* das células tumorais regulam as funções de suas vias de sinalização celular, notadamente em relação às funções básicas de divisão, diferenciação, mobilidade e morte celular, bem como na manutenção do genoma tumoral.

4. Para cada tipo de tumor, ainda que tenha a mesma classificação histopatológica, há diferenças genéticas que atualmente podem ser identificadas por meio de técnicas de biologia molecular e, assim, facilitam diagnósticos precoces e preventivos para diversos tipos de tumores, tornando-se essenciais para a redução da morbidade e mortalidade do câncer.

5. A heterogeneidade genética entre as células de um mesmo tipo de tumor pode ter impacto no sucesso ou insucesso da resposta terapêutica.

Fonte: Vogelstein et al, 2004 (6).

BIOLOGIA ANTITUMORAL DA RADIOTERAPIA

A radioterapia pode ser considerada a primeira forma de terapia celular anticâncer com fundamentações científicas. Sua ação físico-biológica decompõe principalmente as moléculas de DNA presentes em genes relacionados com a divisão celular. O impacto das radiações eletromagnéticas ionizantes (Raio-X e Raio-Gama) e as partículas radioativas (alfa, beta, prótons e nêutrons), todas provenientes do que se considera por energia nuclear, atuam de forma direta na desagregação das bases nitrogenadas do DNA e, de forma indireta, por meio de intensa geração de radicais livres intracelulares. Especificamente, na forma direta, as partículas radioativas destroem ou bloqueiam a ação de genes importantes envolvidos nos processos de progressão de células tumorais, enquanto que, na forma indireta, os radicais livres promovem importantes desequilíbrios metabólicos nas células tumorais que inviabilizam a continuidade de suas vidas. Por se conhecer com mais clareza os efeitos da geração de radicais livres induzidos pela radioterapia, foi possível entender porque alguns tumores são mais susceptíveis que outros quando submetidos às irradiações terapêuticas. Tumores que são mais oxigenados, ou sejam, aqueles localizados em áreas de intensa vascularização, respondem melhor à radioterapia do que os tumores localizados em áreas com pouca oxigenação. Por conta dessa forma de resposta terapêutica, verifica-se que as células tumorais localizadas nas regiões periféricas de um determinado tumor, portanto, com melhor nível de oxigenação, são afetadas com mais intensidades pelos efeitos da irradiação, enquanto que aquelas que estão nas regiões centrais e com menos oxigenação à sua disposição, são menos afetadas por esse tipo de tratamento. A explicação para esse comportamento diferente se deve ao fato de que os radicais livres intracelulares gerados pela irradiação reagem com átomos de oxigênio celular disponíveis nas próprias células, formando compostos moleculares conhecidos como *espécies ativadas de oxigênio*. Entre esses compostos sobressaem o íon hidroxila (HO^*), a superóxido dismutase (O_2^*) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O íon hidroxila, em especial, é muito lesivo às moléculas de DNA que compõem a maioria dos oncogenes indutores de tumor, inviabilizando a vida das células tumorais. Apesar de as células normais

também serem atingidas pela irradiação, o benefício da radioterapia se dá porque as células tumorais têm menos capacidade biológica para se recuperar dos danos moleculares gerados pelos efeitos radioativos, enquanto que as células normais o fazem com mais competência. Além disso, os danos às células normais foram sendo minimizados à medida que as tecnologias de irradiação tornaram-se mais especializadas em atingirem com mais intensidade as células componentes do tumor (7,8). A figura 1 mostra a relação entre vascularização, oxigenação, espécies ativadas de oxigênio e morte de células tumorais submetidas a radioterapia.

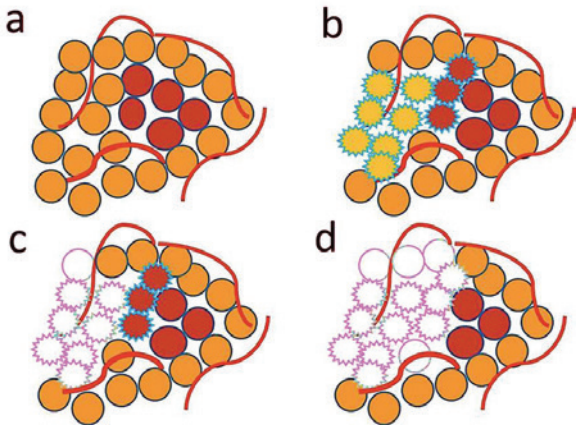


Figura 1
Relação entre vascularização, oxigenação, espécies ativadas de oxigênio e morte das células tumorais submetidas à radioterapia.

(a) células normais em um tecido: as células de cor laranja são mais oxigenadas por estarem próximas à rede de vascularização sanguínea, enquanto que as de cor marrom são menos oxigenadas por estarem no centro do tecido em região menos vascularizada;
(b) tumor primário: células normais se tornaram tumorais nas regiões periféricas e vascularizadas, bem como na região central e menos vascularizada;
(c) tumor submetido às irradiações: nos ciclos iniciais da radioterapia, a maioria das células tumorais mais oxigenadas são destruídas, enquanto que a maioria das células tumorais centrais permanecem vivas;
(d) ciclos sequentes a irradiação: a irradiação tem a capacidade de destruir o que restou das células tumorais centrais.

CITOESPECIFICIDADES DAS AÇÕES DE DROGAS ANTITUMORAIS

A imensa oferta de opções terapêuticas à disposição médica para os diversos tipos de câncer mostra que, para acompanhar o contínuo ritmo de progressos científicos e tecnológicos relacionados com essa doença, é preciso inventar e reinventar processos, considerar e desconsiderar conceitos, sempre com o objetivo de melhorar cada vez mais as estratégias para diagnosticá-la e tratá-la adequadamente. Apesar de presentemente ocorrer uma certa consolidação referente aos tratamentos padrões para os tipos de tumores e de câncer mais frequentes, é necessário descobrir ***de fato*** qual é a estratégia mais eficaz para combater os tumores primários e os cânceres metastáticos, sem comprometer o crescimento e o desenvolvimento das células normais. Considerando as documentações científicas mais atualizadas e confiáveis que dispomos até o presente sobre a biologia das células normais e tumorais, bem como aquelas relacionadas com os comportamentos da progressão de tumores e dos efeitos epigenéticos induzidos por hábitos pessoais deletérios e ambientes desfavoráveis à saúde, foi possível estabelecer três situações que poderiam contribuir para o direcionamento terapêutico do câncer, quais sejam:

a) Identificação laboratorial das mutações condutoras, conhecidas por *mut-drivers*, de cada tipo de tumor, preferencialmente dos tumores mais frequentes, com o objetivo de usar terapias adequadas para bloquear as ações patológicas dos principais oncogenes, assim como também para estimular genes supressores de tumores a funcionarem adequadamente (3).

b) Identificação do comportamento de cada tipo ou de cada grupo de tumores, fundamentando-se na compreensão do funcionamento dos principais genes envolvidos e de suas trajetórias de sinalizações. Conhecendo genes e trajetórias será possível prever a progressão dos tumores e de cânceres e, assim, estabelecer intervenções terapêuticas mais sensíveis para bloquear suas ações (9).

c) Prevenção dos cânceres relacionados com as mutações epigenéticas, conhecidas por *epi-drivers*, e que estão relacionadas com o comportamento das pessoas (hábitos e ambientes não saudáveis), provendo-os com as principais informações sobre os fatores capazes de transformarem células normais em tumorais (10).

A fármaco-genética das drogas antitumorais, por exemplo, obteve nos últimos vinte anos progressos somatórios que melhoraram a relação uso/benefício das terapias direcionadas ao tratamento de tumores primários e cânceres metastáticos, tendo por base suas ações em diferentes fases do ciclo celular. A figura 2 resume esquematicamente essa relação.

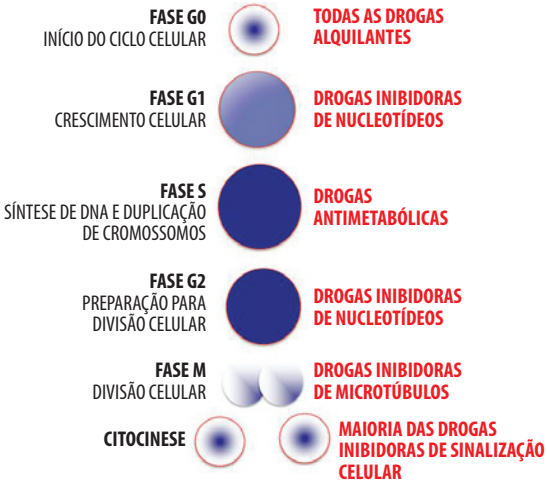


Figura 2
Relação entre fases do desenvolvimento celular, ou ciclo celular, e as ações de diferentes grupos de drogas anti-tumorais.

Apresentamos, a seguir, 17 grupos de drogas utilizadas com frequência na terapia do câncer, suas ações específicas nas células tumorais (citoespecificidades), e os tumores mais sensíveis a cada grupo de drogas, conforme se segue:

1. Drogas alquilantes e instabilizadores de DNA tumoral
2. Agentes antimetabólitos
3. Antibióticos inibidores de nucleotídeos
4. Drogas hipometilantes
5. Drogas anti-radicais livres
6. Inibidores de receptores intracelular de hormônios
7. Inibidores de enzimas de transformação hormonal
8. Inibidores de angiogênese
9. Inibidores de tirosina-quinase
10. Inibidores das proteassomas
11. Inibidores dos microtúbulos
12. Inibidores de mTor
13. Inibidor de PI3Ks
14. Inibidores da desacetilização das histonas
15. Inibidor da via de Hedgehog
16. Anticorpos monoclonais anti-tumorais
17. Indução de mecanismos biológicos anticâncer

1. DROGAS ALQUILANTES E INSTABILIZADORAS DE DNA TUMORAL

Ação biológica: são drogas que têm em sua composição um componente químico, os radicais alquil (H2C*–R), que ao se introduzirem entre as estruturas moleculares do DNA através de seus elétrons livres (H_2C^*–), impedem que os oncogenes efetuem suas funções, notadamente aquelas relacionadas com a divisão das células tumorais. Dependendo do tipo da droga usada, a forma de alteração na estrutura do DNA é diferente. Atuam em vários tipos de tumores, afetando suas células em todas as fases do ciclo celular, mas principalmente na fase Go (11, 12). A figura 3 representa a forma genérica da ação.

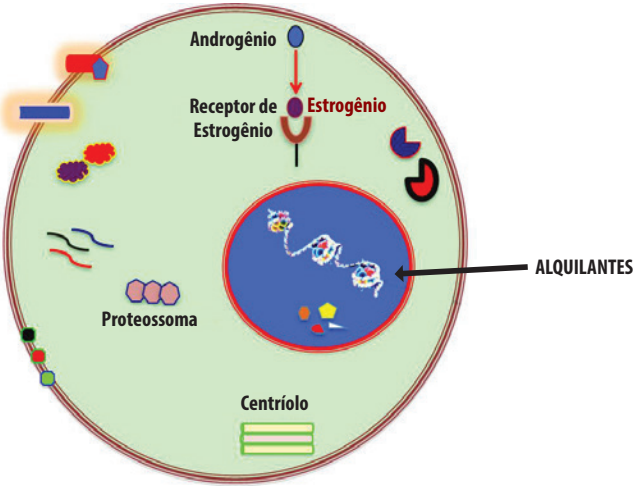


Figura 3
A maioria das drogas alquilantes atuam em moléculas de DNA de vários genes celulares, principalmente aqueles relacionados com a divisão celular. As drogas que incluem platina a seus complexos abreviam o tempo de vida das células tumorais (apoptose provocada). As citoespecificidades de cada grupo de drogas alquilantes e os tumores afetados estão expostos no texto.

Citoespecificidades de algumas drogas alquilantes e os principais tumores afetados:

Melfalan, alkeran e fenilalanina mostarda: os radicais alquil dessas drogas se introduzem entre as ligações das bases nitrogenadas *guanina-adenina*.
Tumores afetados: mama, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo, sarcoma osteogênico, entre outros.

Leukeran, treanda, mustargen, cytoxan: são drogas que têm por base a mostarda nitrogenada, cujos componentes químicos se interpõem entre as bases nitrogenadas *guanina-guanina*, principalmente.
Tumores afetados: doença de Hodgkin, leucemia linfocítica crônica, entre outros.

Bussulfan: são drogas sulfonadas em que seus radicais alquil se interpõem entre as ligações das bases nitrogenadas *guanina-alanina*.
Tumores afetados: leucemias, linfomas, doenças mieloproliferativas, entre outros.

Cisplatina, carboplatina, oxaliplatina: são drogas em que a platina ocupa a região central dos complexos químicos que as compõem. São potentes agentes antitumorais, notadamente quando usados em associação com outras drogas quimioterápicas. Atuam desestabilizando o DNA por se introduzirem entre as ligações das bases nitrogenadas *adenosina-citosina*.
Tumores afetados: testículos, ovários, bexiga, esôfago, garganta, próstata, entre outros.

Gemcitabina: é uma droga que tem a estrutura molecular muito similar à base nitrogenada *citosina*. Por essa razão, a droga ao entrar na célula se ajusta facilmente à estrutura do DNA nas regiões que têm citosina, desestabilizando o DNA e induzindo a apoptose das células tumorais. Essa droga potencializa a ação das drogas com platina (cisplatina, carboplatina e oxaliplatina) intensificando a destruição de células tumorais.
Tumores afetados: pulmão, bexiga, mama, pâncreas, entre outros.

2. AGENTES ANTIMETABÓLICOS

Ação biológica: inibem a síntese de DNA e RNA impedindo a divisão celular, notadamente quando se encontram na *fase S* do ciclo celular. As células tumorais por terem ciclos celulares mais rápidos são mais afetadas que as normais. Entre os antimetabólitos mais ativos destacam-se aqueles que bloqueiam os folatos (antifolatos). Os folatos atuam fornecendo os compostos químicos necessários para formarem as bases nitrogenadas *adenina*, *citosina*, *guanina* e *timina*, que compõem as moléculas de DNA e RNA de genes normais e tumorais (13, 14). A figura 4 identifica a forma de ação das drogas antimetabólitos.

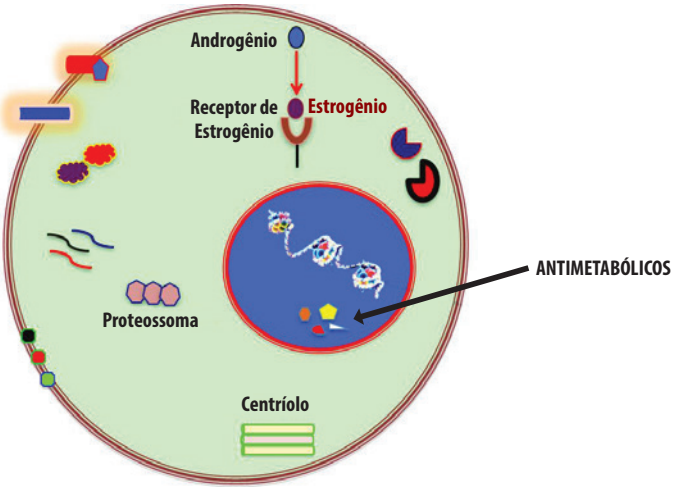


Figura 4
Ação genérica dos agentes antimetabólitos com bloqueio da oferta de bases nitrogenadas para DNA e RNA. As citoespecificidades dessas drogas e os tumores afetados estão expostos no texto.

Citoespecificidades dos agentes antimetabólitos e os principais tumores afetados:

Hidroxiuréa: bloqueia a oferta de componentes químicos do ácido fólico e de outros folatos para comporem as moléculas de DNA e RNA, inibindo, principalmente, os genes relacionados com a divisão celular.
Tumores afetados: leucemia mielóide crônica, ovário, melanoma, vários tipos de tumores de cabeça e pescoço, entre outros.

Metotrexato, ametopterina e aminopterina: ação bloqueadora similar à descrita para hidroxiuréia.
Tumores afetados: leucemia linfoblástica aguda, entre outros.

Pemetrexede, citarabina, fluoracil: ação bloqueadora similar à descrita para hidroxiuréia.
Tumores afetados: leucemia mielóide aguda, tumor de não pequenas células não escamosas do pulmão, mesotelioma pleural maligno, entre outros.

3. ANTIBIÓTICOS INIBIDORES DE NUCLEOTÍDEOS

Ação biológica: esses antibióticos contém produtos químicos que se inserem entre as ligações das bases nitrogenadas de DNA de vários genes, interrompendo processos genéticos em diversas fases do ciclo celular. Entre os produtos químicos usados destacam-se aqueles com anéis insaturados que liberam excessiva carga de elétrons para o interior das células, gerando altas concentrações de radicais livres que alteram notadamente as reações enzimáticas das células tumorais. As células tumorais sob esse estresse químico se tornam ineficientes e passam a ser alvos fáceis das células do sistema imunológico, especialmente dos macrófagos, que as eliminam (15, 16). A figura 5 identifica a forma de ação dos antibióticos inibidores de nucleotídeos.

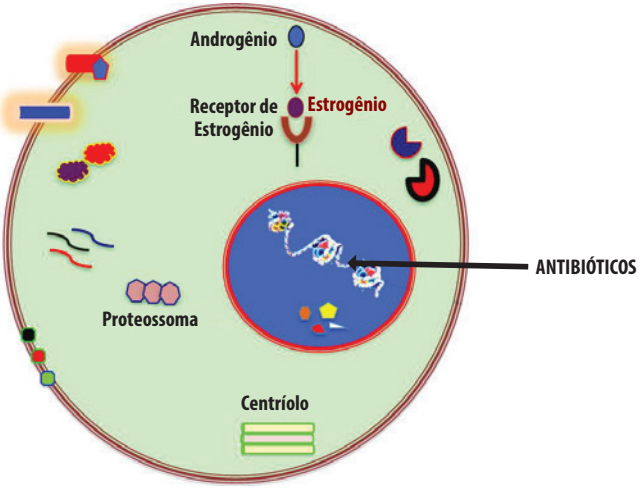


Figura 5
Ação genérica dos antibióticos inibidores de nucleotídeos e geradores de radicais livres. Os inibidores de nucleotídeos bloqueiam a ação de vários oncogenes impedindo as células tumorais de se dividirem, além de induzi-las à morte. Os radicais livres em excesso produzem alterações em reações enzimáticas das células tumorais, tornando-as ineficazes e alvos fáceis para serem eliminadas por macrófagos.

Citoespecificidades dos antibióticos inibidores de nucleotídeos e os principais tumores afetados:

Antraciclinas (doxorrubicina, epirrubicina e daunorrubicina): interferem na divisão celular pelo fato de induzir intensa geração de radicais livres, que se compõem com o oxigênio celular formando espécies ativadas de oxigênio. Uma dessas espécies ativadas, o radical alquil ou HO^*, rompe as duplas hélices do DNA de oncogenes das células tumorais tornando-as inviáveis para se dividirem, abreviando, inclusive, o tempo de vida celular.
Tumores afetados: leucemia mielóide crônica, linfomas não-Hodgkin, entre outros.

Mitomicina C e bleomicina: inserem radicais alquil (alquilação) entre os nucleotídeos das moléculas de DNA e RNA, interrompendo várias fases do ciclo celular.
Tumores afetados: linfoma de Hodgkin

Actinomicina D: atua por meio do bloqueio de nucleotídeos de genes relacionados com as reações enzimáticas das células tumorais. As células afetadas tornam-se alvos dos diversos sistemas de defesa imunológica, interrompendo o crescimento tumoral.
Rapamicina: tem função citostática por inibir as funções de mTOR raptor e mTOR rictor da sinalização celular de Akt, evitando, entre outras ações tumorais, a angiogênese. Essa inibição ocorre na fase G1 do ciclo celular (17). Ver explicação adicional no item 12: Inibidores de mTOR.
Tumores afetados: usados no tratamento auxiliar de vários tipos de câncer.

4. DROGAS HIPOMETILANTES

Ação biológica: os mecanismos epigenéticos envolvidos na origem do câncer podem causar, entre outras formas de induções tumorais, a metilação das moléculas de DNA de vários genes importantes na regulação do ciclo celular, bem como afetar o funcionamento das moléculas de RNA. A metilação se caracteriza, por exemplo, pela reação entre um radical metil (H_3C–) de um produto carcinogênico com uma ou mais base nitrogenada *citosina*. Ao se ligarem com a citosinas de moléculas de DNA de genes envolvidos com a divisão celular, as funções desses genes se descontrolam e podem transformar células normais em tumorais. Se essa ligação ocorrer, por sua vez, em genes supressores que controlam o tempo de vida das células, os mesmos poderão ser bloqueados em seus controles da apoptose e as células afetadas poderão se tornar imortais, transformando-se, geralmente, em células tumorais (18, 19, 20). A figura 6 exemplifica a forma de ação das drogas hipometilantes.

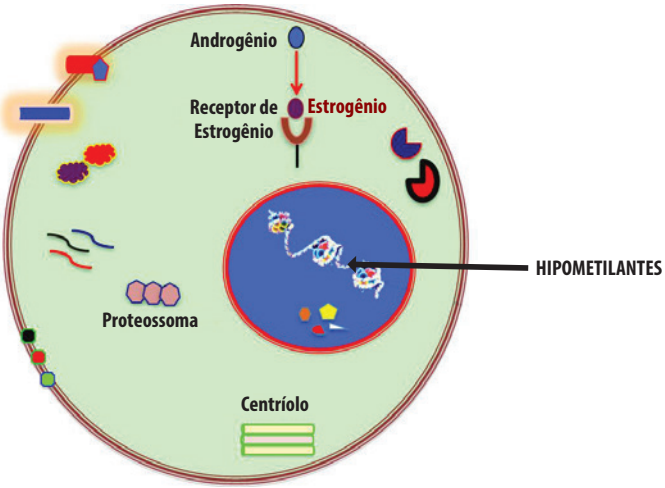


Figura 6
Ação genérica das drogas hipometilantes. O bloqueio da enzima DNA metiltransferase efetuado por drogas hipometilantes evita que radicais metil provenientes de produtos carcinógenos se introduzam nas moléculas de DNA e RNA e se liguem às bases nitrogenadas de citosinas.

Citoespecificidades das drogas hipometilantes e os principais tumores afetados:

Azacitidina: inibe a metilação somente do DNA através do bloqueio da enzima DNA metiltransferase.
Decitabina: inibe a metilação do DNA e do RNA através do bloqueio da enzima DNA metiltransferase.
Tumores afetados: síndrome mielodisplásicas, leucemia mielóide aguda, entre outros.

5. DROGAS ANTI-RADICAIS LIVRES

Ação biológica: as terapias anticâncer efetuadas por meio de irradiações, ou de drogas, induzem excessiva geração de radicais livres nas células tumorais, bem como nas células normais. Embora os radicais livres sejam efetivos contra as células tumorais, induzindo-as geralmente à morte, podem prejudicar, também, as células normais próximas ao tumor, quer sejam em suas funções ou na abreviação de seu ciclo vital. O uso de drogas antirradicais livres busca recompor o equilíbrio químico das células normais, que, por terem períodos de ciclos vitais mais longos em relação às tumorais, são beneficiadas por essa ação biológica. Duas drogas se destacam na recomposição celular, a vitamina C, que atua como antioxidante do líquido citoplasmático, e a vitamina E, que protege a membrana das células contra a oxidação dos ácidos graxos (21, 22). A figura 7 identifica as formas de ação das drogas antirradicais livres.

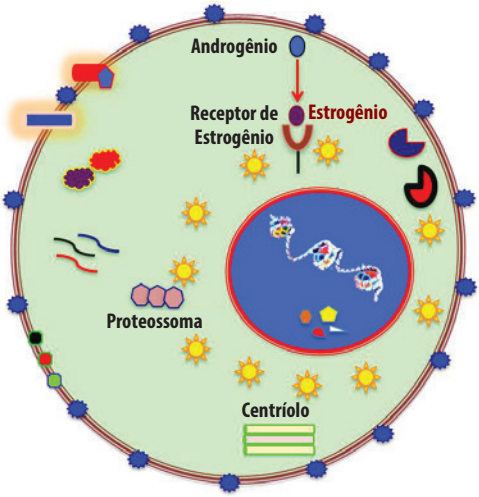


Figura 7
Ação genérica das drogas antirradicais livres. A vitamina C (amarelo) auxilia as enzimas antioxidantes presentes no líquido citoplasmático a degradarem os compostos químicos instáveis, notadamente as espécies ativadas de oxigênio, gerados pelos radicais livres. A vitamina E (azul) retarda a oxidação dos ácidos graxos (lipoperoxidação) induzida por radicais livres que se interpõem entre a dupla camada lipoproteica da membrana citoplasmática.

Citoespecificidades das drogas antirradicais livres e os principais tumores afetados:

Vitamina C: atua auxiliando as enzimas antioxidantes citoplasmáticas a decomporem os radicais livres, notadamente as espécies ativadas de oxigênio (HO^*, H_2O_2, $O_2^{*)}$, em moléculas de H_2O, restabelecendo o equilíbrio molecular da sinalização celular.
Vitamina E: é um composto lipossolúvel e por esta razão tem facilidade de se introduzir entre as duplas camadas lipoproteicas das membranas das células, protegendo-as contra a oxidação das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados.
Tumores afetados: usados como terapia auxiliar de vários tipos de câncer.

6. INIBIDORES DE RECEPTORES INTRACELULARES DE HORMÔNIOS

6.1. Tumor de mama

Ação biológica: as células nucleadas, em geral, têm receptores intracelulares de hormônios. As glândulas mamárias, por exemplo, tem um receptor intracelular específico para o hormônio estrogênio, importante para desencadear as sinalizações químicas das células para divisão e diferenciação celular. Cerca de 2/3 dos tumores de mama têm células tumorais que dependem do estrogênio para dar continuidade à formação tumoral. Muitas dessas células têm, inclusive, um maior número desses receptores em relação às células normais da mama, fato que induz maior atividade das funções celulares, ou hiperexpressão celular. O desenvolvimento de drogas inibidoras de receptores intracelulares para o câncer de mama impede, em pelo menos 70% desses casos, que as células tumorais consigam estrogênio para suas funções, matando-as por inanição celular (23, 24, 25). A figura 8 identifica duas drogas com suas formas de ações citostáticas por meio da inibição intracelular de hormônios.

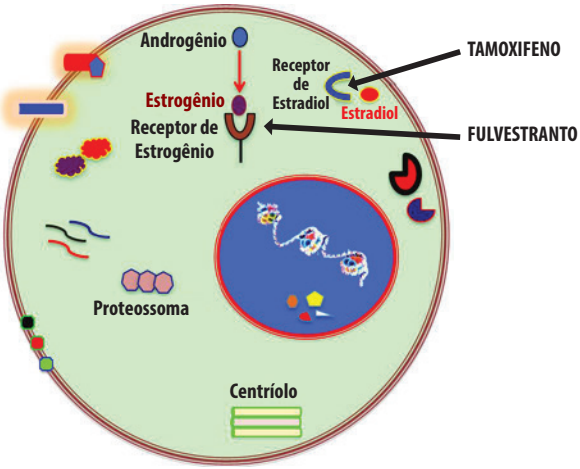


Figura 8
Ação genérica dos inibidores de receptores intracelulares de hormônios. O Tamoxifeno se liga diretamente ao receptor do estradiol, impedindo-o de se ligar com o estradiol disponível na célula e, consequentemente, bloqueia as sinalizações para divisão da célula tumoral.
O Fulvestranto degrada o receptor de estrogênio, impedindo que este hormônio efetue a sinalização para divisão da célula tumoral.

Citoespecificidades de inibidores intracelulares de hormônios e principais tumores afetados:

Tamoxifeno: atua como modulador seletivo dos receptores de estrogênio e age ligando-se ao receptor tumoral para estradiol, competindo com este hormônio. Por conta dessa ação citostática, a droga interrompe o ciclo celular nas *fases G zero e G1*.
Fulvestranto: atua por meio de ligações diretas com o receptor de estrogênio, causando sua degradação e, consequentemente, interrupções de sinalizações químicas para divisão celular. Atua em várias fases do ciclo celular.
Tumores afetados: mama, entre outros.

6.2. Tumor de próstata metastático

Ação biológica: as células da próstata necessitam do hormônio testosterona, produzido no testículo, para efetuar seus ciclos vitais. A testosterona, ao entrar nas células prostáticas, é transformada em subprodutos, entre os quais se destaca a dehidrotestosterona (DHT). A DHT tem estrutura molecular capaz de se ligar com o receptor de andrógeno (RA), que o introduz no núcleo da célula para induzir a divisão celular. Entre as principais origens do câncer de próstata destaca-se a falha do gene supressor P53, que normalmente tem a função de induzir a morte das células tumorais. Portanto, homens com gene P53 defeituoso, quer seja por causas epigenéticas ou por deficiência hereditária, têm possibilidades de desenvolver, entre outros, o tumor de próstata. As células tumorais da próstata são ávidas de testosterona para sobreviver, e entre as opções terapêuticas para evitar o desenvolvimento do tumor sobressaem as drogas que bloqueiam a síntese de testosterona, bem como aquelas que bloqueiam os receptores de testosterona (26, 27).

Citoespecificidades de inibidores intracelulares de hormônios e principais tumores afetados:

Abiraterona: inibe a ação da enzima CYP17 que sintetiza andrógenos (testosterona) nos tecidos do testículo e glândula suprarrenal, bem como em tumores de próstata, impedindo o desenvolvimento das células tumorais.
Enzatulamida: inibe de forma competitiva a ligação de andrógenos (DHT) com receptores de andrógenos (RA), impedindo que o composto RA-DHT penetre no núcleo da célula para estimular a divisão das células tumorais da próstata.
Tumores afetados: próstata, entre outros.

7. INIBIDORES DE ENZIMAS DE TRANSFORMAÇÃO HORMONAL

Ação biológica: em células normais da glândula mamária, o hormônio androgênio se transforma em estrogênio por ação da enzima *aromatase*. O estrogênio é vital para os processos fisiológicos dessas células, principalmente para a divisão celular. As células tumorais da mama, entretanto, estão em contínuo processo de divisão celular e necessitam de altas concentrações de estrogênio. A inibição da enzima *aromatase* por drogas específicas prejudica o ciclo vital das células tumorais por inanição celular, abreviando-lhes seu ciclo vital (28, 29). A figura 9 mostra a forma de interferência celular de drogas inibidoras da enzima *aromatase*.

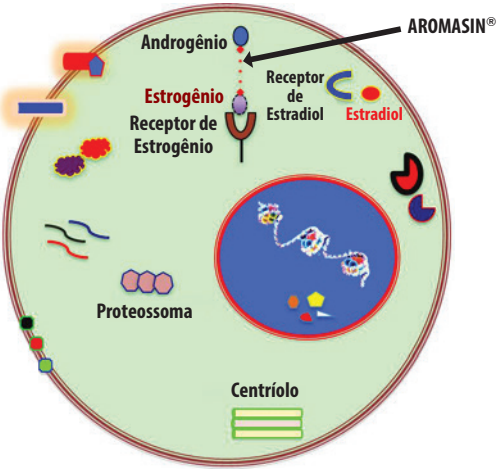


Figura 9
Ação genérica dos inibidores da enzima *aromatase*, representada na figura pela droga Aromasin, na transformação de androgênio em estrogênio. O ciclo vital das células tumorais se torna inviável pela ação de inibidores da *aromatase*, abreviando-lhes seu tempo de vida.

Citoespecificidade de inibidores de enzima de transformação hormonal e os principais tumores afetados:

Exemestano, letrozole e anastrozol: são drogas que se ligam à enzima *aromatase* e inibem as ações químicas que transformam o hormônio androgênio em estrogênio, inviabilizando a vida das células tumorais da mama. **Tumores afetados:** mama e endométrio, entre outros.

8. INIBIDORES DE ANGIOGÊNESE

Ação biológica: a gênese de vasos sanguíneos nos tecidos, bem como em massas tumorais, está associada com as atividades de uma proteína específica conhecida por Fator de Crescimento Endotelial Vascular *(VEGF)*. Além disso, o crescimento de vasos (angiogênese) também é dependente de uma citocina pró-inflamatória conhecida por Fator de Necrose Tumoral alfa *(TNF-alfa)*. Alguns tipos de tumores são dependentes de vascularizações patológicas (neoangiogênese) por ações descontroladas de *VEGF* ou de *TNF-alfa*. Por essas razões o uso de drogas inibidoras de atividades neoangiogênicas pode contribuir para a diminuição de suprimento sanguíneo ao tumor, matando suas células por inanição celular, assim como para evitar o deslocamento de células tumorais circulantes, que podem causar metástases (30, 31). A figura 10 mostra os mecanismos de ação das duas formas de bloqueios da angiogênese.

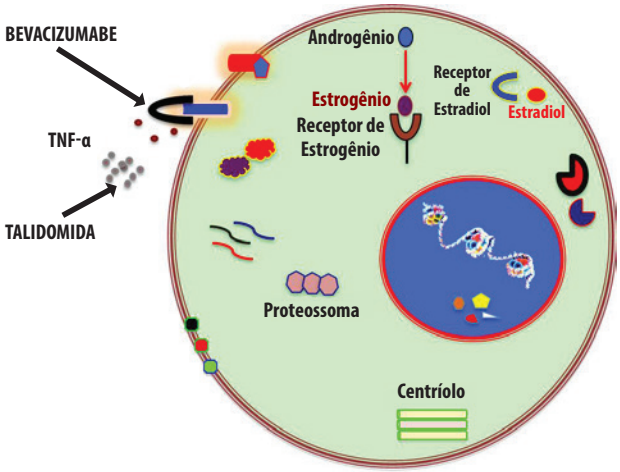


Figura 10
Ações genéricas das drogas Bevacizumabe e da Talidomida. A primeira impede a sinalização interna de *VEGF* para desencadear a sinalização de angiogênese. A segunda reduz a concentração externa de *TNF-alfa*, inibindo os processos pró-inflamatórios no tumor bem como a atração de vasos sanguíneos para o suprimento das células tumorais.

Citoespecificidades de inibidores de angiogênese e os principais tumores afetados:

Bevacizumabe: é um anticorpo monoclonal específico sintetizado para bloquear a ação do *VEGF*, impedindo o crescimento vascular na massa tumoral.
Tumores afetados: pulmão, colorretal metastático, entre outros.

Neovast: droga antiangiogênica multifuncional que inibe o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).
Tumores afetados: colorretal metastático, entre outros.

Vitaxin: anticorpo monoclonal humanizado que atua bloqueando a proteína integrina da membrana das células endoteliais, causando apoptose e inviabilidade de neoangiogênese.
Talidomida: é uma droga que reduz a concentração de *TNF-alfa*, diminuindo o crescimento da massa tumoral por inibição da vascularização e da inflamação tumoral.
Tumores afetados: mieloma múltiplo, melanoma, pâncreas, rim, sarcoma de Kaposi, leucemia mielóide aguda, entre outros

Lenalidomida: induz a apoptose da célula tumoral por meio da inibição das células do estroma de suporte da medula óssea, além do efeito anti-angiogênico e da atividade imunomoduladora.
Tumores afetados: mieloma múltiplo e síndrome mielodisplásica, entre outros.

9. INIBIDORES DE TIROSINA-QUINASE

Ação biológica: as *quinases* são enzimas localizadas em regiões específicas de moléculas de alguns receptores de membranas, por exemplo o receptor Her-2, e em alguns genes, por exemplo, o oncogene *bcr/abl*. Proteínas que têm o aminoácido tirosina em sua composição, em contato com esses receptores ou genes, sofrem a ação das *quinases*, enzimas que adicionam fosfatos às tirosinas (fosforilação). A fosforilação das tirosinas gera energia em forma de ATP, que se acumula em compartimentos moleculares dos receptores e dos genes que atuam como mensageiros biológicos para a indução de sinalizações celulares. Quando há excesso de receptores Her-2, ou da presença do oncogene *bcr/abl*, por exemplo, a fosforilação é intensa e com excessiva geração de energia, promovendo descontroles de sinalizações para a divisão celular e angiogênese, principalmente. Resultante desses descontroles ocorre o aparecimento de tumor primário, ou a gênese de novos vasos sanguíneos (neoangiogênese) para alimentar o tumor. As drogas inibidoras de *tirosina-quinase* ou *TKIs* bloqueiam a região onde se acumulam as moléculas de ATP e, consequentemente, impedem as sinalizações celulares que induziriam a divisão das células tumorais e a neoangiogênese. Há dois grupos de drogas que atuam como TKIs, um deles é formado por pequenas moléculas sintetizadas pela bioengenharia médica e que são identificadas pelos sufixos ib ou ibe, e o outro se deve à produção de anticorpos monoclonais e que são identificados pelo sufixo ab (3, 32, 33, 34). A figura 11 mostra uma representação das ações inibidoras efetuadas pelas drogas inibidoras de tirosina-quinase.

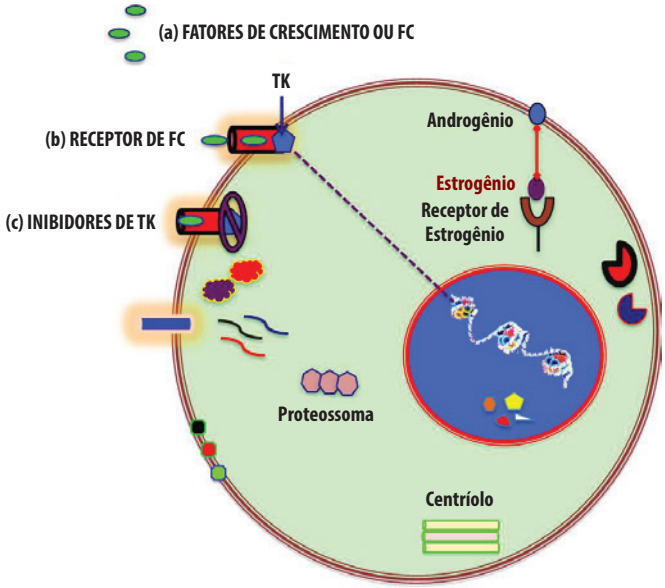


Figura 11
Ação genérica dos *inibidores de tirosina-quinase (TKIs)* para divisão celular.

(**a**) **representação esquemática do conjunto de sinalização de TK:** Receptor de Fator de Crescimento (RFC) para divisão celular ligado à região de *TK*, por onde os sinais para divisão celular são emitidos;
(**b**) **indução normal:** quando o Fator de Crescimento (FC), indutor da divisão celular, se encaixa ao RFC específico, os mensageiros químicos de *tirosina-quinase* emitem sinais em forma de ATP para a divisão celular.
(**c**) **ação das drogas inibidoras de TK (TKIs):** as *TKIs* tomam o lugar de ATP, impedindo a sinalização para a divisão celular.

Citoespecificidades das drogas inibidoras de tirosina-quinase (TKIs) e principais tumores afetados:

Axitinibe: inibidor de *tirosina-quinase* do receptor do fator de crescimento endotelial vascular ou *VEGFR*.
Tumores afetados: carcinoma de células renais, LMC, LLA, entre outros.

Desatinibe: inibidor de *tirosina-quinase* do oncogene *bcr/abl*.
Tumores afetados; LMC Ph+, LLA, LMA, próstata, entre outros.

Erlotinibe: inibidor de *tirosina-quinase* do receptor do fator de crescimento endotelial ou *EGFR*.
Tumores afetados: pâncreas, entre outros.

Gefitinibe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptor do fator de crescimento endotelial ou *EGFR*.
Tumores afetados: pulmão "não pequenas células", entre outros.

Imatinibe: inibidor de *tirosina-quinase* do oncogene *bcr/abl* e de receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas ou *PDGFR*.
Tumores afetados: LMC, tumores estromais gastrointestinais, entre outros.

Lapatinibe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptores dos fatores de crescimento epidermal-1 e 2 ou *EGFR1/EGFR2*, conhecidos também por *Her-1/Her-2*.
Tumores afetados: mama, cólon, entre outros.

Sorafenibe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptor do fator de crescimento endotelial vascular ou *VEGFR*.
Tumores afetados: renal, carcinoma hepatocelular, tireóide, entre outros.

Sunitinibe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptor do fator de crescimento endotelial vascular ou *VEGFR*.
Tumores afetados: renal, estroma gastrointestinal, entre outros.

Ibrutinibe: inibidor de *tirosina-quinase* e de *tirosina-quinase de Bruton (BTK)* presente em células B. A *BTK* ativa a maturação das células B e mastócitos. Ao inativar *BTK* as células B interrompem o processo de maturação e são liberadas dos linfonodos para o sangue periférico, onde sofrem apoptose.
Tumores afetados: leucemia linfocitica crônica, linfoma das células do manto, linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldstrom, mieloma múltiplo, entre outros.

Trastuzumabe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptor do fator de crescimento epidermal-2 ou *EGFR-2*, conhecido também por *Her-2*.
Tumores afetados: mama, entre outros.

Cetuximabe: inibidor de *tirosina-quinase* de receptor do fator de crescimento epidermal ou EGFR.
Tumores afetados: colorretal, cabeça e pescoço, não-pequenas células do pulmão metastático, entre outros.

10. INIBIDORES DAS PROTEASSOMAS

Ação biológica: as *proteassomas* são organelas citoplasmáticas que têm por função degradar proteínas anormais das células, quer sejam aquelas originadas por envelhecimento celular ou as decorrentes por alterações tóxicas de carcinógenos, por exemplo: vírus, bactérias e produtos químicos. Os subprodutos advindos das degradações de proteínas anormais efetuadas pelas proteassomas ativam a proteína *NF-κβ* (Fator nuclear kappa-beta). A *NF-κβ* quando ativada de forma equilibrada inibe o gene P52, que normalmente estimula a apoptose celular e, portanto, controla o tempo de vida da célula. A *NF-κβ* atua, também, na ativação do gene P50 dos linfócitos B para sintetizarem imunoglobulinas, e na estimulação do gene Rel A, que promove a divisão celular. Entretanto, em situações patológicas em que ocorrem contínuas ativações de *NF-κβ*, por exemplo, estímulos epigenéticos de carcinógenos, as *proteassomas* liberam altas concentrações de

subprodutos degradados que ativam descontroladamente a *NF-κβ*. Essa ativação bloqueia completamente o gene da apoptose, causando o prolongamento da vida das células afetadas, estimula a divisão dessas células e, por fim, induzem os linfócitos B a produzirem excessivas concentrações de imunoglobulinas anormais (12, 35, 36). A figura 12 mostra a ação inibidora da droga Bortezomib nas proteassomas.

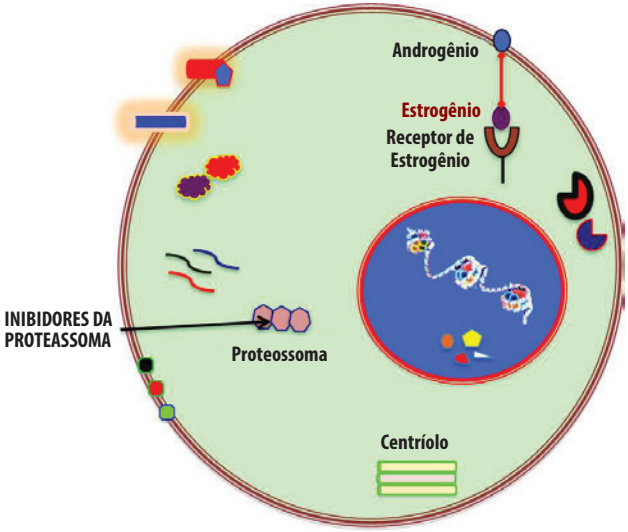


Figura 12
A ação inibidora da droga Bortezomid na *proteassoma*, por exemplo, evita a ativação da proteína *NFκ-β*, e faz com que as células voltem a controlar seus tempos de vida celular, suas divisões celulares, e os linfócitos B sintetizem imunoglobulinas normais.

Citoespecificidades das drogas inibidoras das proteassomas e principais tumores afetados:

Bortezomibe: é uma droga que tem em sua composição química o ácido boronico. O átomo boron se liga com alta especificidade na região catalítica das *proteassomas* inibindo-as de degradar as proteínas anormais marcadas com *ubiquitinas*. Essa inibição evita a ativação contínua da proteína *NF-κβ* e permite que a célula efetue normalmente a apoptose, a divisão celular e a síntese controlada de imunoglobulinas pelos linfócitos B.
Tumores afetados: mieloma múltiplo, entre outros.

Carfilzomibe: esta droga liga-se de forma irreversível à proteassoma e inibe a sua atividade quimotríptica (quimotripsina-*like*), induzindo a célula tumoral à apoptose e inibindo o crescimento tumoral.
Tumores afetados: mieloma múltiplo.

11. INIBIDORES DOS MICROTÚBULOS

Ação biológica: cada célula nucleada tem dois conjuntos de centríolos que, por sua vez, são compostos por agrupamentos de *microtúbulos*. Quando a célula está na fase *M* do ciclo celular e que corresponde à divisão da célula, cada *centríolo* com seus *microtúbulos* se polariza para os dois extremos da célula formando os fusos *espiralantes*, ou fuso mitótico, por onde migram as cromátides irmãs dos cromossomos que serão direcionadas para as duas células filhas resultantes da divisão celular. As drogas inibidoras dos *microtúbulos* impedem polarização dos *centríolos*, evitando a divisão celular. Dois grupos de drogas têm atividades inibidoras dos microtúbulos: *Taxel*, produto inicialmente extraído da casca da árvore conhecida por *Taxus Brevifolia* (Teixo do Pacífico), e a *Vinca*, extraída da planta *Vinca rósea* (3, 12, 37, 38). A figura 13 resume esquematicamente a ação das drogas inibidoras dos *microtúbulos*.

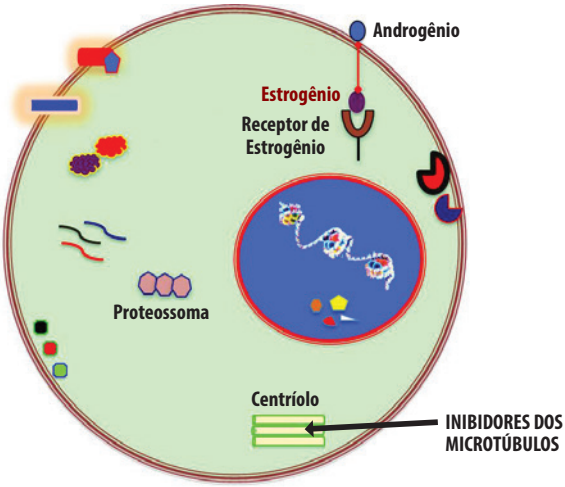


Figura 13
Os inibidores de *microtúbulos* dos centríolos da célula tumoral impedem a formação do fuso mitótico que precede a divisão celular e a induz à apoptose.

Citoespecificidades das drogas inibidoras dos microtúbulos e os principais tumores afetados:

Paclitaxel albumina, docetaxel, cabazitaxel: o *taxel* é um composto com seis átomos de oxigênio expostos em sua estrutura externa e que reagem com as proteínas tubulares *(microtúbulos)* dos *centríolos*, inibindo-os de se movimentarem e de se organizarem para mitose e, consequentemente, impedem a divisão celular e induzem a célula tumoral à apoptose.
Tumores afetados: mama, pulmão (células não-pequenas), próstata, cabeça e pescoço, entre outros e a critério médico.

Vincristina, vindesina e vimblastina: são alcaloides com sete átomos de oxigênio expostos em sua estrutura externa que, da mesma forma como ocorre com o *taxel*, a *vinca* impede a divisão celular e expõe a célula à apoptose.
Tumores afetados: ovário, cabeça e pescoço, cervix, pulmão, sarcomas, linfomas, neuroblastomas, mama, mieloma múltiplo, entre outros e a critério médico.

12. INIBIDORES DE MTOR

Ação biológica: *mTOR* (mammalian Target Of Rapamycin) é a sigla de um conjunto de enzimas que atuam como *quinases* de proteínas que têm sequências de aminoácidos *serina-treonina*. As enzimas *mTOR* são importantes sinalizadores da via *AKT* envolvida na sinalização de tumores. Há dois tipos de *mTOR*: o *mTOR-Rictor*, que atua no controle da angiogênese, sobrevida celular (apoptose) e diferenciação celular; e o *mTOR-Raptor*, que controla a divisão celular. A indução contínua de *mTOR* na sinalização de *AKT* não só induz a formação de células tumorais de um tumor primário, mas possibilita também a atração de vasos sanguíneos para o tumor e, consequentemente, a circulação de células tumorais para outros órgãos, originando metástases (12, 39, 40). A figura 14 mostra um esquema da participação de *mTOR* na sinalização de *AKT* e formas de bloqueios terapêuticos.

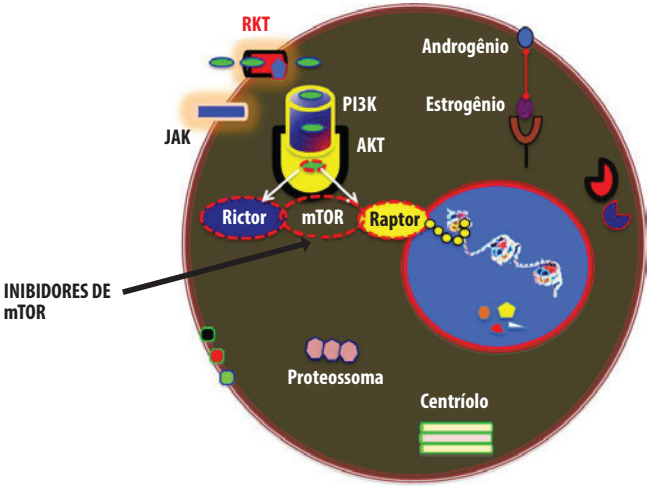


Figura 14
Inibidores de *mTOR-Rictor* e *mTOR-Raptor* que bloqueiam a divisão e abreviam a sobrevivência celular, assim como impedem a neoangiogênese.

Citoespecificidades das drogas inibidoras de mTOR e os principais tumores afetados:

Temsirolimus: é uma droga que *in vivo* se transforma em rapamicina e inibe a ação sinalizadora de *mTOR-Rictor*, relacionada com a progressão da *fase G1* do ciclo das células tumorais, e reduz a capacidade de neoangiogênese.
Tumores afetados: renal, entre outros.

Everolimus: é uma droga que inicialmente foi empregada como imunossupressora para rejeição de transplantes renais, mas que mostrou-se ativa na inibição da sinalização de *mTOR-Raptor* relacionada com a divisão de células tumorais.
Tumores afetados: renal, entre outros.

Deforolimus e ridaforolimus: são drogas inibidoras de *mTOR-Rictor* que bloqueiam a sobrevida celular, a diferenciação da célula tumoral, e a neoangiogênese.
Tumores afetados: sarcomas de tecidos moles e ósseo, entre outros.

13. INIBIDORES DE PI3KS

Ação biológica: *PI3Ks*, que significa Phospho Inositide 3 Kinases, é um grupo de enzimas *quinases* específicas. Essas enzimas atuam de diferentes formas na célula, principalmente no sentido de acionar ou desligar a via de sinalização de *mTOR*. Dessa forma, participam ativamente da divisão, diferenciação e mobilidade celular, bem como da formação de novos vasos sanguíneos. Em alguns tipos de câncer, as *PI3Ks* estão permanentemente ligadas e induzem as células tumorais a crescerem incontrolavelmente (12, 41). A figura 15 mostra a ação da droga inibidora de *PI3Ks* na célula tumoral.

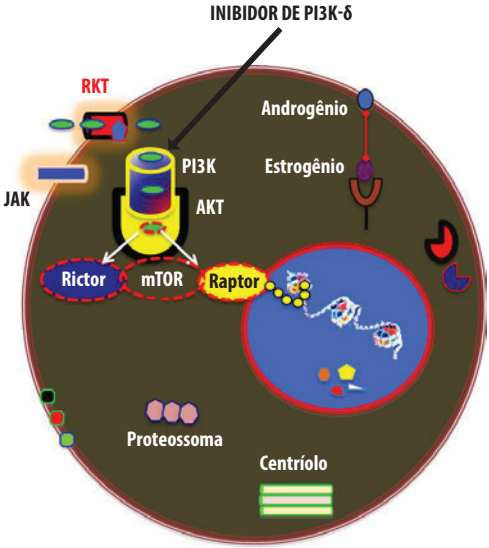


Figura 15
Ação genérica de Idelasinib na enzima *PI3K-δ* impedindo a sinalização de *AKT* para as proteínas *mTOR-Rictor* e *mTOR-Raptor*, com maior efeito para pacientes que tenham mutação no gene supressor p53.

Citoespecificidade do inibidor de *PI3Ks* e principais tumores afetados:

Idelasinibe: é um inibidor específico de *PI3K-delta* de doenças linfoproliferativas de células do tipo B, notadamente para aquelas que têm mutação no gene supressor p53.
Tumores afetados: Leucemia Linfocítica Crônica, entre outros.

14. INIBIDORES DA DESACETILIZAÇÃO DAS HISTONAS (HDIS)

Ação biológica: as *histonas* são proteínas em forma de carretéis com moléculas do DNA enroladas e compactadas, que se revelam ao microscópio sob a forma de cromatinas nos núcleos celulares. Quando as *histonas* recebem o radical acetil, os genes contidos nas moléculas de DNA passam a sintetizar proteínas e enzimas. Ao perderem esses radicais (desacetilização) os genes deixam de produzir proteínas e enzimas. Em câncer, a acetilação e desacetilização têm importância quando a origem de células tumorais ocorre por bloqueio em genes supressores de tumor, por exemplo, o gene p53. O uso de drogas inibidoras da desacetilização das *histonas (HDIs)* promove a reativação dos genes supressores, evitando a formação de células tumorais (42, 43). A figura 16 resume os processos de acetilação e desacetilização das histonas, assim como a ação celular dos *HDIs*.

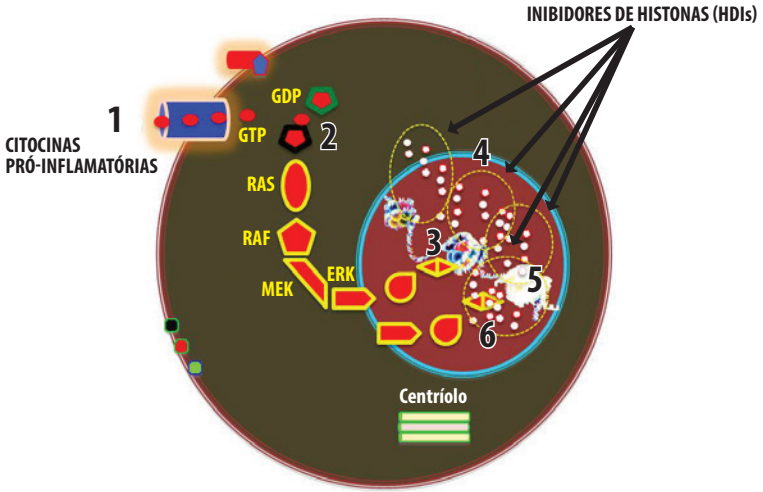


Figura 16
Ação genérica da acetilação e desacetilização das histonas.

Acetilação normal e estímulo de genes supressores: (1) estímulos pró-inflamatórios penetram na célula; (2) ativam a acetilação das histonas; (3) induzem o gene p53 a efetuar mecanismos de reparo de DNA ou de apoptose das células tumorais; (4) e liberam proteínas pró-apoptóticas, causando a apoptose da célula.
Desacetilização que ocorre em célula tumoral: (5) a excessiva concentração de produtos degradados de proteínas anormais em células tumorais *fosforilam* intensamente os radicais acetil das *histonas*, desacetilando-as e (6) bloqueando a expressão do gene p53 para a síntese de proteínas pró-apoptóticas, facilitando o progresso tumoral.
Inibidores da desacetilização das histonas (HDIs): (7) os HDIs interrompem a ação de enzimas que retiram os radicais acetil das *histonas* (desacetilização), permitindo que ocorra a acetilação normal das *histonas* e, consequentemente, o estímulo do gene p53.

Citoespecificidades dos inibidores da desacetilação das histonas e os principais tumores afetados:

Vorinostat: é um ácido hidroxâmico suberoil anilida *(SAHA)* que desacetila as *histonas*, inclusive com quelação do zinco que compõe o sítio ativo das *histonas*.
Tumores afetados: síndrome de Sézari, linfoma LCCT, entre outros.

Belinostat: é um ácido hidroxâmico tipo *histona desacetilase (HDAC)*, que tem atividades antineoplásicas por inibição da divisão e diferenciação celular, bem como no bloqueio da neoangiogênese. Induz, também, a apoptose das células tumorais.
Tumores afetados: Linfoma das células T periféricas, entre outros.

Entinostat: similar ao Belinostat mas com efeito suplementar de estimular o o sistema imunológico, especialmente as células T citotóxicas.
Tumores afetados: linfoma de Hodgkin, mama, pulmão, entre outros.

15. INIBIDORES DA VIA DE HEDGEHOG

Ação biológica: a sinalização de *Hedgehog* atua com dois receptores transmembrana denominados por *Patched (Pat)* e *Smoothened (Smo)*, que estão localizados próximos entre si. Em situações normais, notadamente durante a fase embrionária em que ocorre o desenvolvimento de órgãos e sistemas, o receptor *Pat*, ao receber o estímulo da proteína *Hedgehog (Hh)*, ativa o receptor *Smo* a emitir sinais químicos relacionados com a transcrição do DNA para a divisão celular e angiogênese. Em pessoas adultas normalmente essa via não está ativada. Entretanto, em alguns tipos de tumores, mudanças genéticas podem estimular a contínua síntese de proteínas *Hh* com consequente ativação descontrolada de *Pat* e *Smo*. A ação biológica do inibidor da via de *Hedgehog* ocorre, por sua vez, por meio do bloqueio do receptor *Smo*, tornando-o inativo e sem condições de emitir sinalização para o crescimento do tumor (12, 44, 45). As figuras 17a e 17b representam

as situações pró-tumoral devido à mutação de *Hh*, e anti-tumoral por ação da droga inibidora, respectivamente.

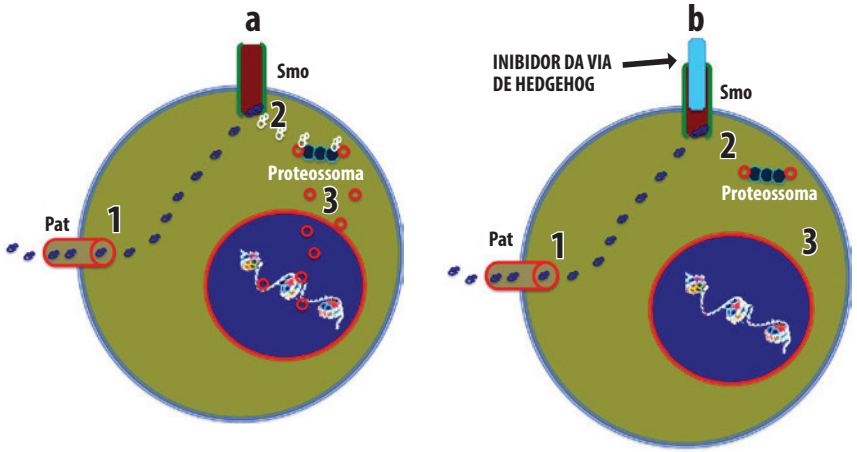


Figura 17

(a) via normal de Hedgehog para transcrição do DNA dos genes que induzem a divisão celular e neoangiogênese: (1) a proteína Hedgehog (Hh) penetra na célula através do receptor Patched **(Pat)** e (2) estimula o receptor Smoothened **(Smo)** a liberar indutores que rompem a ligação de glicina (circulo vermelho) com a proteassoma. (3) a glicina entra no núcleo e ativa a transcrição dos genes.

(**b**) **inibidor da via de Hedgehog:** (1) a proteína *Hh* penetra na célula através de **Pat** e (2) estimula o receptor **Smo** que está bloqueado pela droga **Vismodegibe**, (3) inibindo o estímulo que romperia a ligação de glicina com a proteassoma e, assim, não há estímulo dos genes para divisão celular e angiogênese.

Citoespecificidade do inibidor da via de Hedgehog e os principais tumores afetados:

Vismodegibe: essa droga se liga a uma região molecular externa do receptor transmembrana *Smo*, bloqueando as sinalizações da via de Hedgehog para divisão das células tumorais e da neoangiogenese.
Tumores afetados: carcinomas das células basais, entre outros.

16. ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-TUMORAIS

Ação biológica: os anticorpos monoclonais (AM) isolados integram esquemas terapêuticos próprios (figura 18a), assim como conjugados à quimioterapia (figura 18b) e à partículas radioativas, também conhecidos por radioimunoconjugados (figura 18c). Três diferentes sufixos indicam o tipo de anticorpos monoclonais com fins terapêuticos: *omabe*: para os murinos (obtidos de animais), *ximabe*: para os quiméricos, *zumabe*: para os humanizados, *umabe*: para os humanizados recombinantes (46, 47).

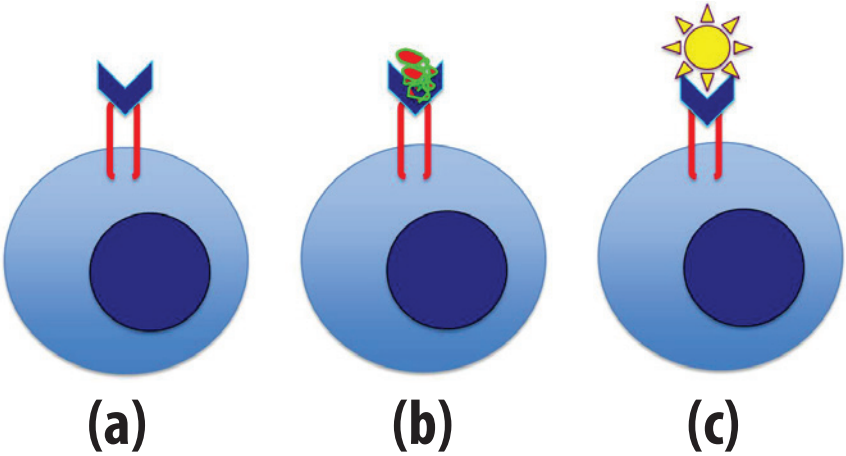


Figura 18

(a) anticorpo monoclonal isolado, por exemplo, **Trastuzumabe**;
(b) anticorpo monoclonal conjugado com droga quimioterápica, por exemplo, **Brentuximabe**; **(c)** anticorpo monoclonal conjugado com partículas radioativas (radioimunoconjugado), por exemplo, **I-tositumomabe**.

Citoespecificidade dos anticorpos monoclonais anti-tumorais e os principais tumores afetados:

Ibiritumomabe tiuxetan: anticorpo monoclonal acoplado com isótopo (radioimunoconjugado). Ao ligar-se com o antígeno CD 20 de células B, seguido da irradiação do tumor, ativam-se as vias de apoptose que induzem a morte celular.
Tumores afetados: linfoma não-Hodgkin de células B de baixo grau, folicular ou transformado, entre outros.

I-tositumomabe: anticorpo monoclonal acoplado com isótopo (radioimunoconjugado). Ao ligar-se com o antígeno CD 20 de células B, seguido da irradiação do tumor, ativam-se vias de apoptose que induzem a morte celular
Tumores afetados: linfoma não-Hodgkin CD 20 positivo, folicular, com ou sem transformação, entre outros

Rituximabe: inibe o antígeno CD20 dos linfócitos B leucêmicos e linfocitários, impedindo-os de emitirem sinais para que se produzam linfócitos auto-imunes e tumorais.
Tumores afetados: linfomas não-Hodgkin de células B, CD 20 positivo, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma difuso de grandes células B, leucemia das células cabeludas entre outros.

Brentuximabe: anticorpo monoclonal conjugado com *Monometil auristatina E MMAE*, que ao se ligar com o antígeno CD 30 ativa as vias de sinalizações de apoptose.
Tumores afetados: Linfoma de Hodgkin.

Trastuzumabe: inibe a hiperexpressão do receptor Her-2 de células, bloqueando a sinalização que estimula a divisão celular.
Tumores afetados: mama metastático e gástrico, entre outros.

Ado-trastuzumabe: anticorpo monoclonal conjugado com *entansina* (DM1). Além de inibir a hiperexpressão do receptor Her-2 de células, bloqueando a sinalização que estimula a divisão celular, induz também a apoptose celular.
Tumores afetados: mama metastático.

Gemtuzumabe: inibe o antígeno CD 33, induzindo a apoptose celular.
Tumores afetados: leucemia mielóide aguda CD 33 positivo.

Alemtuzumabe: inibe o antígeno CD 52 de células B, induzindo a apoptose.
Tumores afetados: leucemia linfocítica crônica do tipo B, entre outros.

Bevacizumabe: inibe o fator estimulador de angiogênese VEGF-A.
Tumores afetados: colorretal metastático, pulmão, renal, glioblastoma, ovário, mama, entre outros.

Ipilimumabe: inibe os antígenos CTLA-4 de linfócitos T, impedindo-os de liberar citocinas que sinalizam a finalização das ações imunológicas, notadamente de macrófagos que atuam em inflamações tumorais e desencadeiam sinais imunológicos para as células T CD8, ou células T citotóxicas, atacarem as células tumorais .
Tumores afetados: melanoma, entre outros.

17. INDUÇÃO DE MECANISMOS BIOLÓGICOS ANTICÂNCER

Ação biológica: algumas drogas têm sido usadas como estimuladoras de mecanismos biológicos, geralmente preventivos contra o desenvolvimentos de tumores. Até o presente há dois tipos de ações fisiológicas anticâncer cientificamente comprovadas, quais sejam, as indutoras de autofagia das células tumorais e os estimuladores de respostas imunes (50, 51, 52, 53, 54).

Citoespecificidades das drogas indutoras de autofagia das células tumorais:

Resveratrol: é um polifenol encontrado em sementes de uva e vinho tinto. Além de várias propriedades protetivas orgânicas, seus componentes químicos interferem na sinalização de *NF-κβ*, induzindo a apoptose e inibindo a neoangiogênese.
Ativador de AMPK (Adenosina Monofosfato Proteina Quinase): é um produto extraído da planta *Gynostemma pentaphyllum*. Em concentrações normais atua como enzima reguladora da energia celular por meio da captura de glicose e da biogênese do transportador de glicose, a molécula *Glut-4*. As células tumorais em comparação com as normais necessitam de muita glicose para suas ações biológicas. A ativação contínua de *AMPK*, entretanto, tem efeitos citotóxicos contra as células tumorais por capturar intensamente a glicose, privando-a de energia para a sua sobrevivência.

Citoespecificidades das drogas estimuladoras de respostas imunes:

Triterpenóides: são saponinas do ácido quiálico, extraído principalmente de maçãs, que têm funções antioxidantes e indutoras de mecanismos imunológicos.
Curcumim: é um fito-nutriente *(Corcuma longa)* extraído do açafrão da Índia que tem funções antioxidantes e anti-inflamatórias, mas recentes pesquisas revelaram que no câncer pode modular a divisão das células

tumorais através das *ciclinas D1* e *c-myc*, além de induzir a apoptose por meio das sinalizações da caspase e dos genes p53 e p21.

Aspirina: o ácido acetil salicílico tem alto potencial anti-inflamatório, inibindo a *enzima* COx_2 *(Ciclo Oxigenase 2)*, cuja função é estimular a inflamação tumoral. Uma outra função importante decorre da inibição da agregação e da adesividade plaquetária. Recentemente, pesquisadores observaram que as células tumorais circulantes com tendência metastática se deslocam pela corrente sanguínea envolvidas por plaquetas, evitando, assim, o reconhecimento imunológico dos macrófagos. O uso de aspirina elimina a aderência das plaquetas nas células tumorais circulantes, expondo-as à eliminação por macrófagos.

BCG (Bacilo Calmette-Guérin): a vacina *BCG* desencadeia uma variedade de respostas imunes, notadamente se for infundida diretamente no tumor. Embora seu mecanismo antitumoral seja ainda desconhecido acredita-se que seja um dos agonistas de *TLR7* (ver abaixo), e seu uso tem sido eficaz no tratamento do câncer de bexiga.

Agonistas de TLR7 (imidazoquinolinas): *TLR7* é um receptor celular que tem a função de reconhecer o patógeno e ativar a imunidade inata das células T e de macrófagos. O estímulo (agonistas) de TLR7 acentua a ativação do sistema imunológico. Tem sido aplicado no tratamento de verrugas genitais e carcinoma de célula basal superficial (câncer comum de pele).

CONCLUSÃO

As ações terapêuticas das drogas antitumorais estão se tornando cada vez mais específicas em relação aos diferentes tipos de tumores. Destacam-se principalmente a imunoterapia desenvolvida pela bioengenharia médica, com anticorpos monoclonais cada vez mais específicos e refinados. Por outro lado, o desenvolvimento de nanopartículas terapêuticas antitumorais, que transportam drogas letais somente contra as células tumorais, é quase uma realidade. Por todas essas razões, a identificação laboratorial apropriada de um determinado tipo de tumor é muito importante para

a conduta terapêutica. As alterações moleculares que transformam células normais em tumorais, assim como supostos mecanismos epigenéticos indutores de produtos carcinogênicos, devem ser pesquisados em pessoas com câncer. Mas, apesar de todo o progresso científico e tecnológico exposto neste artigo, a detecção precoce de tumores e medidas preventivas para evita-los constituem presentemente as medidas mais eficazes para evitar que um tumor se transforme em câncer.

REFERÊNCIAS

1. Naoum PC, Naoum FA – Câncer: Porque eu? Respostas a 120 perguntas efetuadas por quem tem ou teve câncer. Editora All Print, São Paulo, 215p, 2012.
2. Coussens LM, Zitvogel L, Paluck ACK – Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? Science 339: 286-291, 2013.
3. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Diaz Jr LA, Kinzler KW – Cancer genome landscapes. Science 339:1546-1558, 2013.
4. Garber K – Targeting copper to treat breast cancer. Science 349:128-129, 2015.
5. Hubbard Sr, Till JH – Protein tyrosine kinase structure and function. Annu. Rev. Biochem. 69: 373-398, 2000.
6. Volgestein B, Kinzler KW – Cancer genes and pathways they control. Nature Medicine 10: 789-799, 2004.
7. Das DK, Essman WB – Oxygen radicals: systemic events and disease processes. Kargers Publisher, Basel, 196p,1990.
8. Marnett LJ – Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis 21:261-270, 2000.
9. King RJB, Robins MW – Cancer biology, 3rd ed. Pearson Education Limited, Harlow, UK, 208p, 2006.
10. Pritchard DJ, Korf BR – Medical genetics at glance. Cap. 31: The Molecular biology of cancer, p:339-387. Blackwell Science Pub. Oxford, 2003.
11. Scherf U, Ross DT, Waltham M – A gene expression. Database for the molecular pharmacology of cancer. Nature genetics 24: 236-244, 2000.
12. Weinberg RA – The biology of cancer. Garland Science, Taylor & Francis Group. New York, 2007.
13. Sawyers C – Targeted cancer therapy. Nature 425: 780-782, 2004.
14. Dark GG – Oncology at a Glance. Wiley-Blackwell Publication, West Sussex, 132p, 2014.
15. Booser D, Hortobagyi J – Anthracycline antibiotics in cancer therapy. Drugs 47: 223-258, 1994.
16. Lamb R, Ozsvari B, Lisanti CL – Antibiotics that target mitochondria effectively eradicate cancer stem cells, across multiple tumor types: treating cancer like an infectious disease. Oncotarget 10: 4569-4584, 2015.
17. Gingras AC, Raught B, Sonenberg N – Regulation of translation initiation by FRAP/mTOR. Genes Dev. 15: 807-826, 2001.
18. Baylin SB, Herman JG – DNA hypermetilation in tumorogenesis: epigenetics joins genetics. Trend. Genet. 16: 168-174, 2000.
19. Laird PW – The power and promise of DNA methylation markers. Nat. Rev. Cancer 3: 253-266, 2003.

20. Friedberg EC, McDaniel LD, Schultz RA – The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. Curr. Opin. Genet. Dev. 14:5-10, 2004.

21. Marnett LJ – Oxyradicalsand DNA damage. Carcinogenesis 21:261-270, 2000.

22. Wogan GN, Hecht SS, Felton JS – Environmental and chemical carcinogenesis. Semin. Cancer Biol. 14: 473-486, 2004.

23. Nahta R, Hortobágyi GN, Esteva FJ – Growth factor receptors in breast cancer: potential for therapeutic intervention. Oncologist 8: 5-17, 2003.

24. Weigelt B, Peterse JL, van't Veer LI – Breast cancer metastasis: markers and models. Nat. Rev. Cancer 5: 591- 602, 2005.

25. Garber K – Targeting copper to treat breast cancer. Science 349:128-129, 2015.

26. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS – Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. N. Engl. J. Med. 368: 138-148, 2013.

27. Beer TM, Armstrong AJ, Rathok DE – Enzalutamide in metastic prostate cancer before chemotherapy. N. Engl. J. Med. 371: 414-433, 2014.

28. Coombers RC – Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2-3 years tamoxifen treatment: a randomized controlled trial. Lancet 369: 559-570, 2007.

29. Howell A, Cuzick J, Baun M – Results of the ATAC (Aramidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after 5 years adjuvant treatment of breast cancer. Lancet 365: 60-62, 2005.

30. Nishida RS, Yano H, Nishida T – Angiogenesis in cancer. Vasc Healt Risk Manag. 2: 213-219, 2006.

31. Samant RS, Sheude LA – Recent advances in anti-angiogenic therapy of cancer. Oncotarget 2: 122-134, 2011.

32. Zwick E, Bange J, Ullrich A – Receptor tyrosine kinases as target for anticancer drugs. Trends Mol. Med. 8: 16-23, 2002.

33. Sawyers C – Target cancer therapy. Nature 425: 78-782, 2003.

34. Del Debbio CB, Tonon LM, Secoli SR – Terapia com anticorpos monoclonais. Uma revisão de literature. Revista Gaúcha de Enfermagem 28: 133-142, 2007.

35. Adams J – The proteasome: a suitable antineoplastic target. Nat. Rev. Cancer 4: 349-360, 2004.

36. Almeida CA, Barry SA – Cancer: basic science and clinical aspects. Wiley-Blackwell Publication, West Sussex, 405p, 2010.

37. Horwitz SB – Taxol (paclitaxel) mechanism of action. Ann. Oncol. 5 Suppl. 6:S3-6, 1994.

38. Mohammadgnholi A, Rabbani A, Fallah S – Mechanism of the interaction of plant alkaloid vincristine with DNA and chromatin. DNA Cell Biology 32: 228-235, 2013.

39. Guertin DA, Sabatini DM – An expanding role for mTOR in cancer. Trends Mol. Med. 11: 353-361, 2005.

40. Vinayak S, Carlson RW – mTOR inhibitor in treatment of breast cancer. Oncology 27:

38-44, 2013.

41. McNamara CR, Degterev A – Small molecule inhibitors of the PI3k signaling network. Future Med. Chem. 3: 549-565, 2011.

42. Menditi KBC – O papel das proteínas histonas nas neoplasias hematológicas. Revista-Brasileira de Cancerologia 53: 453-460, 2007.

43. Falkenberg KJ, Johnstone RW – Histone deacetylases and their inhibitor in cancer, neurological diseases and imune disorders. Nature Reviews Drug Discovery 13: 673-691, 2014.

44. Scott MP – A twist in hedgehog's tale. Nature 425: 780-782, 2003.

45. Sandhiya S, Melvin G, Kumar SS – The down of hedgehog inhibitors: vismodegib. J. Pharmacology Pharmacother 4: 4-7, 2013.

46. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S – Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER-2 for metastatic breast cancers that overexpress HER-2. N. Engl. J. Med. 344: 783-792, 2001.

47. Smith MR – Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody) mechanisms of action and resistance. Oncogene 22: 7359-7368, 2003.

48. Harris M – Monoclonal antibodies as therapeutic agents for cancer. Lancer Oncol. 5: 292-302, 2004.

49. Korman A, Yellin M, Keler T – Tumor immunotherapy: preclinical and clinical activity of anti-CTLA4 antibodies. Curr. Opin. Invest Drugs 6: 582-591, 2005.

50. Ravindran J, Prasad S, Aggarwal BB – Curcumin and cancer cell: how many ways can curry kill tumor cells selectively? AAPS Journal 11: 495-510, 2009.

51. Patiola JM, Rao CV – Triterpenoides for cancer prevention and treatment: current status and future prospects. Curr Pharm Biotechnol 13: 147-155, 2012.

52. Carter LG, Orazio JA, Pearson,KJ – Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. Endocr Relat Cancer 21: R209-R255, 2014.

53. Steinberg GD – Bacillus Calmette-Guérin immunotherapies for bladder cancer overview of BCG immunotherapy. Medscape, May 2, 2014.

54. Sinha G – More evidence that aspirin lowers cancer risk. J Natl Cancer Inst 107: 495-500, 2015.

CAPÍTULO 5

BIOLOGIA DOS NUTRIENTES QUE PODEM INDUZIR OU EVITAR O CÂNCER HUMANO

Paulo Cesar Naoum

INTRODUÇÃO

Os efeitos orgânicos mais comuns em pessoas com câncer são o emagrecimento e o desconforto em se alimentar. O emagrecimento se deve notadamente às contínuas divisões das células tumorais, que ocorrem num grau muito rápido quando comparado com as células normais. As constantes divisões das células tumorais desequilibram os metabolismos celulares de proteínas, enzimas, carboidratos e gorduras, consumindo as ofertas propiciadas pelo organismo com imensa avidez. Devido ao aumento do nível metabólico das células tumorais e de seus consumos excessivos de glicose e colesterol, principalmente, as células normais, por sua vez, têm dificuldades em se manterem em quantidades suficientes na composição de tecidos e órgãos, bem como para efetuar suas funções básicas. Por essa razão, é comum que o primeiro tecido afetado seja o adiposo, promovendo o emagrecimento na maioria das pessoas com câncer, notadamente naquelas acometidas por metástases. Entretanto, outros problemas de mal funcionamento orgânico se somam aos acima citados e que ocorrem durante e após os tratamentos de quimioterapia. Destacam-se, assim, a falta de apetite, enjoo, dores ao mastigar e engolir alimentos, e febre constante, fatos que, isolados ou combinados, prejudicam a alimentação. Os impactos fisiológicos da quimioterapia atingem não só as células tumorais, mas também podem destruir as células normais das mucosas do trato digestivo, os leucócitos que participam do sistema de defesa imunológica e, também, as plaquetas que atuam para impedir sangramentos espontâneos ou induzidos. Todas essas modificações celulares, que ocorrem cumulativamente

ao longo de semanas ou meses, afetam direta ou indiretamente a nutrição das pessoas com câncer. Por exemplo, nas mucosas, principalmente as da boca e garganta, por onde passam grandes contingentes de bactérias existentes na água, ar e alimentos, permitem a fixação de colônias bacterianas, que podem dar início a processos de lesões teciduais. Com a queda numérica de leucócitos provocada pela quimioterapia ocorre o enfraquecimento das defesas imunológicas, permitindo, dessa forma, que bactérias não patogênicas, acumuladas nas mucosas, produzam focos infecciosos capazes de causarem feridas dolorosas que se manifestam durante o ato alimentar. Em situações extremas, as lesões infeciosas das mucosas induzem o sangramento devido à deficiência numérica de plaquetas, também provocada pelos efeitos da quimioterapia. As patologias advindas da plaquetopenia são abrangentes, pois os contínuos sangramentos de mucosa ou nas regiões abrangidas por tumores causam a perda expressiva de eritrócitos e, consequentemente, de ferro. A perda contínua de ferro, importante componente da hemoglobina, propicia o surgimento da anemia ferropriva com variáveis graus de intensidade (1,2). Os produtos de degradação da quimioterapia também são tóxicos, principalmente para o fígado, prejudicando o metabolismo de vários componentes alimentares, notadamente daqueles provenientes de alimentos gordurosos. Portanto, a alimentação para as pessoas com câncer deve ser especial e deve ter orientações médicas e nutricionais especializadas (3).

Por todas as razões acima expostas há dois tipos de questionamentos:

- Quais nutrientes contribuem para indução de câncer?
- Quais nutrientes contribuem para evitar o câncer ou minimizar seus efeitos?

NUTRIENTES QUE CONTRIBUEM PARA A INDUÇÃO DE CÂNCER

Tem sido demonstrado cientificamente que as influências ambientais e hábitos pessoais têm fortes relações com a formação das células tumorais, cuja evolução tumoral, que ocorre de forma lenta e cumulativa, são responsáveis pela causa de aproximadamente 90% de todos os tipos de câncer. Os 10% restantes dos cânceres estão igualmente divididos em causas hereditárias e deficiências constitucionais da própria pessoa, destacando-se entre esta última a deficiência imunológica crônica. A influência ambiental e dos hábitos pessoais como causas de câncer é conhecida por *"epigenética do câncer"*. Entre essas causas destacam-se os produtos químicos, físicos ou biológicos, quer sejam provenientes do ambiente ou dos hábitos pessoais. O acúmulo no organismo desses produtos se torna tóxico e pode causar o descontrole das atividades de importantes moléculas das células. Entre as moléculas envolvidas na gênese de células tumorais destacam-se as que participam da sinalização celular, as que agrupam os filamentos de DNA *(histonas)* e as que protegem os cromossomos *(telômeros)*. Portanto, com base nesses conhecimentos, várias pesquisas (3,4,5) demonstraram que as principais causas indutoras de tumores malignos se devem a:

- *gorduras trans e saturadas, e nitrosaminas*, envolvidas em 35% dos tumores;
- ácido carbólico do fumo, relacionado com 30% dos tumores;
- *obesidade*, que induz ao desgaste contínuo do sistema imunológico, causa 15% dos tumores;
- *agentes biológicos (vírus e bactérias, principalmente)*, associados com 15% dos tumores;
- *radiações e poluentes ambientais*, envolvidos em 5% dos tumores.

Para exemplificar os efeitos nutricionais provenientes de alimentos não saudáveis, destacamos o exemplo de suas interferências moleculares nas histonas. Como se sabe, as histonas agrupam os filamentos de DNA como se fossem casulos moleculares, compondo o que se denomina por *cromatina nuclear*. Os compostos químicos tóxicos provenientes de gorduras trans, do

fumo, do álcool, de poluentes ambientais, de determinados tipos de vírus e bactérias, e dos átomos das radiações, entre outros, percorrem um longo caminho celular até atingirem as histonas. Inicialmente, é necessário que receptores de membrana citoplasmática se liguem aos produtos tóxicos e os introduzam nas células. Em seguida, esses produtos têm de atravessar o citoplasma e se defender dos ataques das enzimas protetoras das células contaminadas. Vencidas essas etapas, os produtos têm que entrar em contato com receptores de membrana nuclear para que sejam introduzidos no interior dos núcleos celulares e, por fim, atacar as histonas. Portanto, trata-se de um imenso esforço biológico de produtos tóxicos invasores e que precisam vencer barreiras até atingirem uma ou mais organelas das células contaminadas. Para que células normais se transformem em tumorais por meio dessas agressões tóxicas é preciso saturar milhões de células, continuamente, por vários anos, até que todas as coincidências químicas acima mencionadas ocorram. As principais formas de toxicidade de alimentos não saudáveis decorrem de reações químicas que liberam excessivas concentrações de fosfatos, de radicais metil e de radicais acetil. O contínuo acúmulo de fosfatos, ao atingir as estruturas moleculares das histonas, por exemplo, provoca a *fosforilação* de suas moléculas, com efeitos deletérios nas células atingidas. O principal resultado dessa *contaminação epigenética* é a incapacidade dos genes envolvidos em reparos de DNA em realizar o "conserto biológico" de moléculas celulares que foram atingidas. Como consequência, as células que sofreram uma mutação inicial e que foram afetadas pela fosforilação das histonas ficam incapazes de se recuperarem, e seguem em suas sequências mutacionais até originarem a *célula tumoral inicial ou primária*. Estas células funcionam como células tronco tumorais, que geralmente evoluem para a formação do tumor primário. O excesso de radicais metil, por sua vez, causa a *metilação* das bases nitrogenadas de citosinas, tornando-as ineficientes em suas funções. Caso essas bases nitrogenadas atingidas pela metilação estejam, por exemplo, no DNA de genes supressores de tumores, as células tumorais iniciais ou primárias ficam incapazes de se autodestruirem, fenômeno biológico conhecido por *apoptose tumoral*. Como consequência dessa incapacidade, as células tumorais

iniciais ou primárias se tornam *imortais*, com possibilidades de sofrerem mutações seguidas, ou "mutações em cima de mutações". A evolução desse tumor primário produz células tumorais especializadas em efetuar mobilidades e a produção de novos vasos sanguíneos (neoangiogênese). A partir dessa fase, o tumor passa a distribuir células tumorais para outros órgãos, configurando a metástase tumoral. Por fim, a excessiva oferta de radicais acetil, ou *acetilação*, provenientes da toxicidade adquirida do meio ambiente ou de hábitos pessoais, retira as cargas positivas dos aminoácidos lisina que compõe as histonas. Como resultado dessa alteração química, a ligação histona-DNA fica enfraquecida, fato que desequilibra a ação de transcrição RNAm-DNA. O RNAm descontrolado copia o DNA inúmeras vezes, produzindo mais proteínas que o necessário. Se o gene afetado for aquele que está relacionado com a estimulação da divisão celular, a célula se divide indefinidamente, causando a formação de tumor primário (4,5).

AS GORDURAS TÓXICAS E SEUS EFEITOS DELETÉRIOS AO ORGANISMO

As gorduras tóxicas são as saturadas e as trans. As saturadas estão presentes na carne vermelha, manteiga de leite, queijo branco não industrializado e sorvetes, enquanto que as trans estão presentes nas margarinas, batatas *chips*, maionese, *ketchups* e frituras. Esses tipos de gorduras são ricamente hidrogenadas e o excesso de hidrogênio desequilibra a ação antioxidante das células, favorecendo a ação dos radicais livres oxidativos. Os radicais livres, além de danificar as membranas das células de todo o organismo, podem, também, causar lesões nas moléculas de histonas, alterando a ação de um ou mais genes. O consumo contínuo de gorduras trans e saturadas pode, ao longo do tempo, atingir indiretamente genes importantes como, por exemplo, os que controlam a divisão celular, a supressão de tumores ou o reparo de DNA. Essas lesões não provocam mutações nos genes, mas alteram suas atividades funcionais, inibindo-os ou estimulando-os. Ao ocorrer esses tipos de lesões é possível que células normais

possam se transformar em células tumorais. Esses efeitos provenientes de hábitos alimentares não saudáveis podem ser potencializados quando a pessoa tem baixo teor de defesa antioxidante em suas células. Dessa forma, quando a toxicidade celular se torna crônica e cumulativa, as moléculas de DNA são atingidas direta ou indiretamente, podendo, assim, modificar completamente as atividades biológicas dos genes das quais fazem parte. Os tumores malignos mais comuns resultantes do ataque tóxico das gorduras trans e saturadas ocorrem no intestino grosso, mama e próstata, principalmente (2,5).

AS NITROSAMINAS E SEUS EFEITOS DELETÉRIOS AO ORGANISMO

Os nitritos e nitratos estão presentes nas águas não tratadas e nas contaminadas, em conservantes de comidas, em alimentos embutidos ou enlatados, e no sal grosso. O excesso dessas substâncias se acumula nas células e nos tecidos, e se tornam radicais livres oxidantes representados quimicamente por NOx (NO, NO_2, e NO_3). A elevação da concentração desses radicais livres impede que as células realizem suas atividades adequadamente. Por se tratar de agressões tóxicas contínuas, especialmente contra o trato gastrointestinal, o câncer gástrico é o que está mais relacionado com o acúmulo de nitrosaminas (2,6,7).

ALIMENTOS DEFUMADOS E SEUS EFEITOS DELETÉRIOS AO ORGANISMO

A defumação altera a estrutura química dos alimentos submetidos a esse processo de conservação por reter a gordura no alimento defumado, produzindo odor e sabor agradáveis. Por essa razão o alimento defumado contém alto teor de substâncias aromáticas policíclicas, que se rompem durante a defumação e liberam produtos químicos capazes de

se comporem com segmentos de DNA das células que foram intoxicadas, alterando suas estruturas. Esse fato causa alterações nos genes das moléculas de DNA afetadas, induzindo que células normais se transformem em células anormais, com possibilidade de se tornarem tumorais. Os consumidores de alimentos defumados apresentam aumento da incidência de tumores malignos no estômago e intestino grosso (8).

CORANTES DE ALIMENTOS E SEUS EFEITOS DELETÉRIOS AO ORGANISMO

São usados para produzir aspectos atrativos em doces, balas, biscoitos, refrigerantes, manteigas, queijos, alimentos embutidos, sorvetes, etc. Felizmente nem todos os corantes têm potencial cancerígeno. Os mais perigosos, como o amarelo manteiga e o vermelho escarlate, têm alto potencial para causar danos às estruturas moleculares que envolvem o DNA, como as histonas e os telômeros, potencializando transformações de células normais em células tumorais. Por essas razões, seu uso na composição de alimentos tem sido desaconselhado pelas agências de controle de produção de alimentos. No entanto, sua relação direta com o câncer ainda é desconhecida (4).

AGROTÓXICOS E SEUS EFEITOS DELETÉRIOS AO ORGANISMO

Os inseticidas, fungicidas e herbicidas são compostos químicos usados na lavoura para protegê-la contra insetos, fungos e ervas daninhas, mas sua toxicidade, ao se tornar cumulativa, passa a ser lesiva às células do organismo humano e de outras espécies animais que consomem os produtos vegetais contaminados. Nesses casos, os órgãos produtores de sangue (medula óssea e linfonodos) e o pulmão são os mais afetados. O glicofosfato, por exemplo, desenvolvido para matar ervas daninhas ou perenes, tem sido associado com o aparecimento de linfomas não-Hodgkin e

mieloma múltiplo em trabalhadores rurais. Enquanto que o carbofurano, usado como inseticida, tem em sua composição o metil carbamato de benzofuralina, cuja alta toxicidade tem sido relacionada com câncer de pulmão em pessoas que o manipulam (9).

NUTRIENTES QUE CONTRIBUEM PARA EVITAR O CÂNCER OU MINIMIZAR OS EFEITOS DO CÂNCER

Basicamente três grupos de nutrientes estão relacionados com a qualidade da saúde e, consequentemente, podem desempenhar importantes funções na prevenção de doenças, entre elas o câncer. São os nutrientes que contém fibras, vitamina A e selênio.

FIBRAS

Têm recomendação nutricional na prevenção do câncer do intestino grosso, além de promover com melhor eficiência as funções digestivas. Os alimentos ricos em fibras são os legumes, verduras e frutas. Atualmente, muitos alimentos industrializados têm fibras adicionadas às suas composições. As fibras agem diluindo os esteroides fecais resultantes da decomposição de gorduras. Como absorvem água, as fibras aumentam o bolo fecal e, consequentemente, diminuem o tempo de trânsito no intestino, pois o bolo fecal aumentado torna os movimentos intestinais mais fortes, expelindo-o com maior rapidez. Esse processo, além de dar maior conforto digestivo, contribui para eliminar os esteroides fecais da mucosa intestinal. Os esteroides fecais, acumulados por longos períodos, como o que ocorre no intestino "preso", por exemplo, podem sofrer oxidações e outras alterações químicas, tornando-se potencialmente agressivos às células intestinais. Essa agressividade é química, capaz de causar danos às moléculas de DNA, afetando a qualidade fisiológica de importantes genes, por exemplo, aqueles relacionados com a divisão celular, diferenciação celular, etc. Nessas

situações, é possível que células afetadas continuamente, possam se tornar tumorais e induzir o aparecimento, por exemplo, do câncer intestinal (10).

VITAMINA A

Tem indicação nutricional para dar elasticidade ao tecido conjuntivo dérmico e na conservação das células epiteliais, principalmente da pele. Por essa razão, a vitamina A atua no controle da regeneração das células epiteliais, contribuindo organicamente para inibir o aparecimento de câncer epitelial. É importante destacar que apesar da deficiência crônica de vitamina A estar relacionada com câncer epitelial, o excesso dessa vitamina (hipervitaminose A), proveniente do uso continuado de medicamentos que as contém, pode ser tóxico ao organismo causando náuseas, perda de peso, vômitos, dores articulares, desidratação das mucosas, etc. Os alimentos ricos em vitamina A são cenoura, abóbora, fígado, espinafre, melão, batata-doce, brócolis, manga, pêssego, beterraba, lentilha, banana, melancia e caqui (11).

SELÊNIO

Está presente em inúmeros alimentos, como frutos do mar, víscera, alho, cebola, milho, cereais integrais, cogumelo e castanha do Pará. Atua quimicamente auxiliando as reações que tornam efetivos os mecanismos biológicos de reparo de lesões mutacionais sofridas pelo DNA, e também tem efeito antioxidante para as células, protegendo-as das oxidações muitas vezes tóxicas (12).

ALIMENTOS COM PROPRIEDADES ANTITUMORAIS

São apresentados, a seguir, alguns dos principais alimentos destacando-se os principais nutrientes que têm propriedades biológicas para a proteção das células, incluindo as que se caracterizam com antitumorais e as que atuam contra o excesso de radicais livres. Para todos os alimentos são descritas as *ações naturais de proteção* ao organismo e as *ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia*.

1. Couve, couve-flor, repolho e brócolis

Ações naturais de proteção ao organismo: têm funções antibacterianas, além de serem ricas em cálcio, ferro, folatos, fibras, vitamina C, beta caroteno, potássio e selênio. A vitamina C, principalmente, atua contra o excesso de radicais livres que são liberados pelas células tumorais, minimizando seus efeitos patológicos nos tecidos afetados. O brócolis, por sua vez, é rico em sulforafano, produto fito-químico que participa na estimulação de síntese das células do sistema de defesas imunológicas, notadamente dos linfócitos (13).

Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: esses dois procedimentos terapêuticos, ao matarem as células tumorais, fazem com que essas liberem excessiva quantidade de radicais livres para o organismo. Os radicais livres, por sua vez, atacam as células normais destruindo-as e alterando as funções de tecidos e órgãos atingidos. A vitamina C, como já foi descrito, atua na proteção contra os radicais livres que desequilibram o metabolismo que ocorre no citoplasma das células afetadas. Por outro lado, os alimentos acima mencionados induzem o fígado a sintetizar a enzima $CYP1A_2$, que passa a transformar os produtos tóxicos provenientes da quimioterapia e da radioterapia (átomos de oxigênio, carbono, hidrogênio e nitrogênio) em substâncias úteis ao organismo afetado (14).

2. Cebola, cebolinha, alho e manjericão

Ações naturais de proteção ao organismo: esses alimentos são ricos em di e tri-sulfatos, compostos químicos com várias e importantes ações biológicas de proteção ao organismo, com destaques para:

a) ações antimicrobianas contra bactérias, fungos e vírus. Como se sabe, alguns tipos de bactérias, por exemplo, a *Helicobacter pylori*, e de vírus, como são os casos de *HTLV1*, *HPV*, *EBV*, entre outros, tem potencial na indução de descontrole celular e indução à formação de tumores malignos primários;
b) elevação do componente HDL-colesterol das lipoproteínas, atuando, portanto, na prevenção de doenças cardiovasculares;
c) inibição da agregação de plaquetas na circulação sanguínea e, portanto, previne contra a formação de trombos e trombose. Entretanto, as ações protetivas dos componentes químicos di e tri-sulfatos na prevenção ao câncer se deve ao fato de que ao inibir a agregação de plaquetas, impede, também, a circulação de células tumorais circulantes que "se escondem" entre os agregados de plaquetas, situação que se caracteriza como uma das principais formas de desencadear as metástases. Foi demonstrado cientificamente que as células tumorais ao "se esconderem" entre as plaquetas, fazem com que o sistema imunológico relacionados com a defesa do nosso organismo tenha dificuldade em eliminar as células tumorais circulantes (5,15).
d) os componentes sulfatados desses alimentos regulam o *citocromo P45Os*, uma enzima importante que atua na desintoxicação de gorduras trans e saturadas, além das nitrosaminas (16).

Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: as pessoas submetidas a esses procedimentos terapêuticos são afetadas pelas toxicidades química e radioativa, situações que prejudicam o equilíbrio de suas defesas imunológicas. O uso dos alimentos acima mencionados, notadamente o alho, pelo fato de inibirem a agregação das plaquetas na circulação, minimizam esses efeitos deletérios pois promovem maior fluidez à circulação sanguínea, possibilitando a comunicação entre as células que

atuam na defesa imunológica e, consequentemente, auxiliam na eliminação das células tumorais (5).

3. Frutas cítricas: abacaxi, acerola, caju, limão, laranja, lima, cidra e tangerina

Ações naturais de proteção ao organismo provenientes da casca: a casca das frutas cítricas tem uma substância conhecida por *terpenóides* ou *terpenos*, que protegem as frutas contra os insetos. No ser humano os terpenóides têm ação antioxidante e atuam contra a oxidação do LDL-colesterol. Ao se tornar oxidada a estrutura molecular do LDL-colesterol se cristaliza e o acúmulo desses cristais no sangue forma as placas de ateroma e causa a aterosclerose. Em relação aos seus benefícios no câncer, os terpenóides interferem em várias vias da sinalização celular tumoral, inibindo a proliferação dessas células e a metástase (17).

Ações naturais de proteção ao organismo provenientes da polpa: a polpa das frutas cítricas é rica em *flavonoides*, com intensa ação antioxidante. Sua ação nas células do organismo humano é dirigida para induzir a morte celular (apoptose) quando elas se tornam repletas de espécies ativadas de oxigênio ou radicais livres, situação comum quando células normais se tornam tumorais. A dieta diária de alimentos com flavonoides e seus produtos derivados diminui o risco dos seguintes tipos de tumores: mama, pulmão, próstata, pâncreas e cólon (18)

Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: esses procedimentos terapêuticos têm a função de eliminar as células tumorais através das alterações metabólicas decorrentes dos subprodutos da quimioterapia e da radioterapia e da alta concentração de radicais livres. Essas alterações atingem também as células normais, de tal forma que a ação protetiva antioxidante advinda principalmente dos flavonoides auxilia essas células a se recuperarem e se tornarem resistentes aos desequilíbrios metabólicos (2).

4. Maçã, tomate, batata, fava, abobrinha, rabanete e chicória

Ações naturais de proteção ao organismo: esses alimentos são ricos em *quercitina* e *kaempferol*, que são tipos específicos de flavonoides. Como foi descrito acima, os flavonoides, por terem ações antioxidantes, induzem a morte de células quando estas apresentam altas concentrações de radicais livres, fato comum entre as tumorais (18). Especificamente quercitina e kaempferol são substâncias que atacam produtos tóxicos provenientes de óxidos de nitrogênio (NOx), composto químico comum em focos inflamatórios e que indiretamente prejudica a ação das células de defesas imunológica. Pelo fato da maioria dos tumores causarem inflamações na regiões onde se desenvolvem, a decomposição das diversas formas de óxidos de nitrogênio facilita o desempenho biológico das células de defesas imunológicas (19).
Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: esses procedimentos terapêuticos causam a desestabilização química das células tumorais e, em menor grau, das células normais, com geração de radicais livres proporcional ao grau de desestabilização. Como os flavonoides têm ação antioxidante, seus efeitos são mais eficazes nas células normais intoxicadas pela quimioterapia ou pela radioterapia. As células tumorais, entretanto, por morrerem pelos efeitos dessas terapias, não utilizam os flavonoides para se recuperarem, fato que beneficia as células normais afetadas pelos produtos provenientes dos tratamentos acima mencionados (2).

5. Chás, chocolate amargo, uva e açafrão

Ações naturais de proteção ao organismo: são ricos em *polifenóis*, compostos químicos que ao entrarem em contato com as células estimulam reações químicas que participam do metabolismo celular. Em chás verde e branco, por exemplo, os polifenóis mais comuns são as *catequinas* que fornecem subprodutos para sínteses de interleucinas ou citocinas que sinalizam as células de defesa imunológica a atuarem na dissipação de focos inflamatórios. Desse modo, como a maioria dos tumores malignos primários se

desenvolve associada a processos inflamatórios, a ação anti-inflamatória dos chás auxilia os mecanismos imunológicos de proteção contra o desenvolvimento do tumor (20). Os chocolates amargos, uvas tintas e açafrão são ricos em *resveratrol*, substância química que auxilia a eliminação de radicais livres liberados pelas células tumorais e que são prejudiciais às células normais, principalmente àquelas próximas ao tumor, protegendo-as e diminuindo a possibilidade de que ocorra a expansão tumoral (21).
Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: polifenóis e resveratrol protegem as células normais contra os radicais livres, quer sejam os provenientes diretamente da quimioterapia e da radioterapia, ou daqueles liberados pelas células tumorais mortas.

6. Morango, amora, framboesa, noz e castanha

Ações naturais de proteção ao organismo: são ricos em alguns tipos de polifenóis, tais como os ácidos *cafeíco*, *ferúlico* e *elágico*. O ácido cafeíco é um composto químico que atua na ativação energética das células normais, evitando a fadiga e a perda de peso, que são situações clínicas frequentes em pessoas com câncer. O ácido cafeíco e a cafeína também têm específica ação anticâncer por inibirem receptores de estrogênio em mulheres com câncer de mama, tornando mais efetiva, inclusive, a ação do quimioterápico tamoxifeno na inibição da divisão das células tumorais (22). O ácido ferúlico, por sua vez, tem ação anti-inflamatória e antitrombótica, além de outros benefícios biológicos que atuam na proteção cardíaca e vascular, bem como nos processos biológicos de contenção da expansão tumoral. Por fim, o ácido elágico está relacionado com a sinalização celular que estimula a morte das células tumorais (23).
Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: os benefícios advindos da ativação energética, antifadiga, perda de peso e anti-inflamatória, situações comuns decorrentes da quimioterapia e radioterapia, são os atributos oferecidos por esses alimentos para auxiliar na recuperação do organismo (2).

7. Cereais e grãos: soja, milho e sementes

Ações naturais de proteção ao organismo: esses alimentos têm um tipo de flavonóide conhecido por *isoflavona*, que possue estruturas químicas similares ao hormônio estrogênio humano. Por essa razão, esses alimentos são recomendados na menopausa com o objetivo de diminuir os efeitos adversos causados pela queda de estrogênio. Entre os componentes de isoflavona sobressai a *genisteina*, cuja configuração química permite que se encaixe no receptáculo da proteína tirosina-quinase (TK), envolvida na sinalização celular estimuladora da angiogênese. Vários tipos de câncer, incluindo a leucemia mielóide crônica, têm origem através do descontrole da proteína TK. Admite-se, portanto, que a genisteina, ao se encaixar no receptáculo de TK das células normais que se tornaram tumorais, pode bloquear a sinalização da angiogênese, evitando que novos vasos sanguíneos alcancem a célula tumoral para alimentá-la, bloqueando inclusive a metástase (24).
Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: a genisteina aumenta o efeito terapêutico dos seguintes quimioterápicos: cisplatina, docetaxel, doxorubicina, gemcitabina, tamoxifeno, vincristina e ciclofosfamida. A combinação de genisteina e radioterapia aumenta os efeitos contra a proliferação de células tumorais (25).

8. Vegetais e frutas de cor laranja

Ações naturais de proteção ao organismo: possuem em sua composição altas concentrações de *alfa* e *beta caroteno*, substâncias químicas que ativam as enzimas antioxidantes e o desempenho das células de defesa do sistema imunológico (26, 27). Entre os alimentos de cor laranja destacam-se:

a) **laranja:** rica em vitamina C e ações antioxidantes que protegem o citoplasma das células normais contra os radicais livres liberados pelas células tumorais;
b) **tangerina:** rica em vitamina C, potássio e fósforo. O potássio, em particular, auxilia no controle da pressão sanguínea. O fósforo, por sua vez,

minimiza os efeitos da fraqueza, situação comum em pessoas com câncer;

c) **caju:** rico em vitaminas C, complexo B e E, e fibras. A vitamina E é um antioxidante que protege a membrana das células contra o ataque de radicais livres liberados pelas células tumorais, bem como os provenientes dos subprodutos da quimioterapia e radioterapia;

d) **mamão papaia:** rico em beta caroteno e em papaína. O beta caroteno ativa as enzimas celulares antioxidantes e no fígado é transformado em vitamina A. A papaína auxilia a digestão de alimentos pelas células da mucosa gástrica, geralmente lesadas pelos subprodutos da quimioterapia;

e) **manga:** rica em beta caroteno e vitamina E, cujos benefícios foram descritos acima;

f) **caqui:** é um alimento com muitos benefícios para o desempenho metabólico, principalmente para pessoas com câncer. Contém vitaminas A, B_1, B_2 e E, além de cálcio, ferro, proteínas e fibras.

g) **damasco:** é o alimento mais completo entre os de cor laranja. Contém vitaminas A, C, K, B_3, B_9, B_5, magnésio, potássio, fósforo, ferro e fibras.

h) **cenoura:** contém altas concentrações de vitamina A e fibras. Especificamente a vitamina A, proveniente do beta caroteno, auxilia o fígado na eliminação de toxinas, principalmente as provenientes de células tumorais eliminadas pela quimioterapia e radioterapia.

i) **abóbora:** rica em beta caroteno.

Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: todas as propriedades nutritivas acima apresentadas atuam de formas direta ou indireta na remoção de radicais livres gerados por esses procedimentos terapêuticos.

9. Tomate, melancia e goiaba

Ações naturais de proteção ao organismo: esses alimentos contém um produto derivado do caroteno conhecido por *licopeno*, com importante ação antioxidante. Tomate e melancia são os mais ricos em licopeno, e a melancia, em particular, é rica em vitaminas A, B e C, além de sais minerais para hidratação. A goiaba é rica em vitamina C, flavonoides e carotenoides, e a goiabeira, em particular, é uma planta com propriedades medicinais (26). O chá de folhas de goiabeira é indicado para conter diarreias, minimizar efeitos da dor de garganta, vômitos e náuseas (28).
Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: atuam principalmente na remoção de radicais livres gerados por esses tipos de procedimentos terapêuticos. O chá das folhas de goiabeira auxilia nos desconfortos orgânicos causados por esses tratamentos.

10. Chá preto, café, cacau e guaraná

Ações naturais de proteção ao organismo: esses alimentos são abundantes em metilxantinas, que derivam para substâncias conhecidas por *cafeína*, *teofilina* e *teobromina*. A cafeína atua na ativação energética das células normais por meio da indução da vasodilatação periférica. Por essa razão, a cafeína promove a sensação de bem estar e evita a fadiga (22). A teofilina, por sua vez, estimula a sinalização celular no reparo de proteínas, especialmente quando a célula sofre a agressão de radicais livres contra suas membranas através da lipoperoxidação. A teobromina, por fim, atua na vasodilatação periférica, além de auxiliar na diurese (29). É importante enfatizar que cafeína, teofilina e teobromina são biologicamente eficazes em doses pequenas, por exemplo, uma xícara pequena de café contém 50 miligramas de cafeína. Em doses maiores, por exemplo, cinco ou mais xícaras pequenas de café, por dia, podem causar danos à saúde.

Ações protetivas contra os efeitos da quimioterapia e radioterapia: atuam na ação antifadiga e antidepressiva, situações que podem ocorrer na sequência dos tratamentos de quimioterapia e radioterapia.

CONCLUSÃO

Cerca de 30% de todos os tipos de câncer e 70% dos cânceres no trato gastrintestinal estão associados à alimentos não saudáveis, notadamente gorduras trans e saturadas, e às nitrosaminas provenientes do sal grosso e conservantes alimentares. O álcool, por sua vez, está associado aos cânceres do trato gastrintestinal, fígado, mama e ovário, devido às agressões tóxicas do acetaldeído, que o seu principal metabólito (30). É evidente que muitos usuários de alimentos não saudáveis e de álcool também são obesos, e a obesidade potencializa a possibilidade do surgimento de tumores malignos e, consequentemente, de câncer. Os alimentos com nutrientes que protegem as células contra as diversas formas de agressões tóxicas, por sua vez, minimizam a possibilidade de células normais se transformarem em tumorais. Por fim, pessoas com câncer, submetidas à quimioterapia à e radioterapia podem ser beneficiadas com alimentos saudáveis. Alimentos tidos como saudáveis, por conter determinados nutrientes, atuam na proteção das células normais, uma vez que as exigências metabólicas para suportarem as agressões tóxicas desses tipos de tratamentos, as tornam susceptíveis a alterações biológicas.

REFERÊNCIAS

1. Sugimura T. – Nutrition and dietary carcinogens. Carcinogenesis, 21: 387-395, 2000.
2. Gomes R.; Moura R.F. – Nutrição e Câncer. In: Prevenção do Câncer. Editora Manole Ltda., p: 363-374, 2010.
3. McLeod H.L. – Cancer pharmacogenomics: early promise, but concerned effort needed. Science, 339: 1563-1566, 2013.
4. Suvà M.L.; Riggi N.; Berstein B.E. – Epigenetic reprogramming in cancer. Science, 339: 1567-1570, 2013.
5. Naoum P.C. – Interfaces celular, molecular, imunológica e terapêutica do câncer. Laes&Haes, 213: 74-96, 2015.
6. Hill M.J.; Hawksworth G.; Tattersall G. – Bacteria, nitrosamines and cancer of the stomach. Br J Cancer, 28: 562-567, 1973.
7. Larsson S.C.; Bergkvist L.; Wolk A. – Processed meat consumption dietary nitrosamines and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. Int J Cancer, 119: 915-1919, 2006.
8. Fritz W.; Soós K. – Smoked food and cancer. Bibl Nutr Dieta, 29: 57-64, 1980.
9. Roos A.J. et al. Cancer incidence among glycophosate-exposed pesticide applicators in the agricultureal health study. Environmental Health Perspectives, 113: 49-54, 2005.
10. Valko M. et al. – Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interaction, 160: 1-40, 2006.
11. Willet W.C. – Vitamin A and lung cancer. Nutr Rev, 48: 201-211, 1990.
12. Vicenti M. et al. – Selenium for preventing cancer. Cochrane Database Syst Rev, mar 30; 3: CD005195, 2014.
13. Li Y.; Zhang T. – Targeting cancer stem cells with sulphoraphane, a dietary componente from broccoli and broccoli sprouts. Future Oncol, 9: 1097-1103, 2013.
14. Hayes J.D.; Kelleher M.O.; Eggleston I.M. – The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. European Journal of Nutrition, 47: 73-88, 2008.
15. Steibmertz K.A.; Potter J.D. – Vegetable, fruit, and cancer prevention. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 96: 1027-1039, 1996.
16. Rodrigues-Antona C.; Ingelman-Sundberg M. – Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. Oncogene, 25: 1679-1691, 2006.
17. Huang M.; Lu J.J.; Huang M.Q. Terpenoids: natural products for cancer therapy. Expert Opin Investig Drugs, 21: 1801-1808, 2012.
18. Romagnolo D.F.; Selmin O.L. – Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. J Nutr Gerontol Geriatr, 31: 206-238, 2012.
19. Physicians Committee for responsible medicine. Foods for cancer prevention. http://

www.pcrm.org/health-topics/foods-for-cancer-prevention

20. Leifert W.R.; Abeywardena M.Y. – Grape seed and red wine polyphenol extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation and 5-lipoxigenase activity. Nutrition Research, 28: 842-850, 2008.

21. Lastra C.A.; Villegas I. – Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant: mechanism and clinical implications. Biochemical Society Transactions, 35: 1156-1160, 2007.

22. Rosendahl A.H. et al. – Caffeine and caffeic acid inhibit growth and modify estrogen receptor and insuline-like growth factor I receptor levels in human breast cancer. Clin Cancer Res, 21: 1877-1887, 2015.

23. Zhang H.M.; Zaho L.; Hao L. – Research progress in the anticarcinogenic actions and mechanisms of ellagic acid. Cancer Biol Med, 11: 92-100, 2014.

24. Pavese J.M.; Farmer R.L.; Bergan R.C. Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein. Cancer Metastasis Rev, 29: 465-482, 2010.

25. Khoshyomn S.; Manske G.C.; Lew S.M. – Synergistic action of genistein and cisplatine on growth inhibition and cytotoxity of human medulloblastoma cells. Pediatr Neurosurg, 33: 123-131, 2000.

26. Thun M.J. – Vitamin C and vitamin E supplement use and bladder cancer motarlity in large cohort of US men and women. Am J Epiemiol, 156: 1002-1010, 2002.

27. Druene-Pecollo N.; Latino-Martel P.; Hercberg S. – Beta carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. Int J Cancer, 127: 172-184, 2010.

28. Gonçalves F.A. et al. – Antibacterial activity of guava *(Psidium guajava Linnaeus)* leaf extracts ondiaddhea-causing enteric bactéria isolated from seabob shrimp. Rev Int Med Trop Sao Paulo, 50: 11-15, 2008.

29. Slotkin T.A.; Seidler F.J. – Antimitotic and cytotoxic effects of theophyline in MDA-MB-231 human breast cancer cells. Breast Cancer Res Treat, 64: 259-267, 2000.

OS AUTORES

Paulo Cesar Naoum: graduou-se em Biomedicina pela UNESP de Botucatu em 1969. Especializou-se em bioquímica de proteínas no *Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas* (IVIC), Caracas, Venezuela, em 1971. Doutorou-se em Ciências pela UNESP em 1972, e fez pós-doutorado em bioquímica de proteínas no *Clinical Biochemistry Department, Addenbrooke Hospital, Cambridge University*, Cambridge, Inglaterra, entre 1976 a 1977. Especializou-se em diagnóstico laboratorial de talassemias no *Centro di Microcitemia di Roma*, Roma, Itália, no período de 1986 a 1987. Tornou-se Livre-Docente pela UNESP em 1983 e Professor Titular pela UNESP em 1989. Foi diretor do Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas, UNESP, de São José do Rio Preto no período de 1990 a 1994. Foi assessor e pesquisador científico da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o controle de hemoglobinopatias na América Latina no período de 1988 a 1992. Foi assessor científico do Ministério da Saúde (1990-1994), do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP). Atuou em pesquisas científicas de importância pública para o Brasil sobre os efeitos da poluição industrial em Cubatão, elucidando as prováveis causas de anencefalia em recém-nascidos daquela região (1982-1988), mapeou a distribuição geográfica das hemoglobinopatias no Brasil entre 1978 e 2000, e instituiu o programa de prevenção de hemoglobinopatias no Brasil em 1988. Tem cerca de 100 artigos científicos publicados em periódicos científicos do Brasil, USA, Costa Rica, Suécia, Suíça, Espanha, Rússia e Bolívia. Tem doze livros científicos publicados entre 1987 e 2012. Foi orientador de alunos de pós-graduação da UNESP, da UFP e da UFRJ. Premiado quatro vezes em nível nacional por instituições científicas. Autor de filmes científicos em forma de *cartoon* e, juntamente com sua esposa Alia Fernandes Maluf Naoum, produziu os seguintes temas: *Diabetes tipo 2, Anemia falciforme, Fluxo sanguíneo e invasão de vírus, Hemostasia e coagulação, Câncer: conhecer, prevenir e vencer*, todos em português e inglês, que somam perto de 2 milhões de

acessos. É fundador e diretor da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP. Em 2010, após 40 anos de experiência em proteínas e hemoglobinopatias, resolveu mudar seus estudos para conhecer as causas, origens e sinalizações de proteínas capazes de transformarem células normais e tumorais. Este livro é um resumo deste estudo.

Flávio Augusto Naoum: graduou-se em Medicina pela Faculdade de Medicina de Marilia em 1998. Realizou residência médica em Hematologia e Hemoterapia na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo no período de 2000 a 2004. Tornou-se Mestre em Hematologia pela Universidade de São Paulo em 2004, e doutorou-se em Medicina Interna pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto em 2006. Em 2008 realizou o pós-doutorado em hematologia clínica na *North Middlesex University of London e no Royal London Hospital*, Londres, Inglaterra. Foi médico do Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Base e do Hospital Beneficência Portuguesa, ambos em São José do Rio Preto. Publicou artigos científicos em periódicos do Brasil e exterior, e é autor de quatro livros científicos e co-autor de três livros científicos, todos na especialidade de hematologia. É professor e tutor do curso de Medicina da FACERES de São José do Rio Preto desde 2012. É coordenador clínico dos cursos de especialização da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto e diretor do Instituto Naoum de Hematologia.