

Uma das doenças de mortalidade mais elevada no mundo inteiro, o câncer é, por isso mesmo, uma das mais estudadas e com recursos cada vez mais importantes, tanto para o diagnóstico precoce como para terapia preventiva e tratamento em estágios iniciais. Em 22 de novembro de 1991, a revista Science, publicação semanal da American Association for the Advancement of Sciences, lançou uma edição especial sobre câncer. Nela constata-se que nos Estados Unidos as previsões são de que o câncer continuará sendo, pelo menos até o ano 2000, a principal causa de morte, sobretudo entre as mulheres. Em contrapartida, constata-se a ênfase dada à prevenção e a hábitos de vida que podem diminuir a incidência da doença. O avanço das pesquisas, tanto em ciência básica, quanto nas mais sofisticadas técnicas de biologia molecular, permite prever, a curto prazo, maior sobrevivência em melhores condições para os pacientes e, num prazo mais longo, a tão esperada cura. Ciência Hoje apresenta os comentários de pesquisadores e médicos brasileiros sobre o trabalho que está sendo conduzido no exterior e também entre nós para alcançar essa meta.

Ciência em dia

C Â N C E R

VÍRUS NO CÂNCER HUMANO	2
Luísa Lina Villa	
TOXINAS RECOMBINANTES NA TERAPIA DO CÂNCER	3
Vivian Rumjanek	
ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS	4
Gláucia M. Machado-Santelli	
GENES SUPRESSORES	6
Ricardo Renzo Brentani	
FATORES DE CRESCIMENTO	7
Daniel Tabak	
MODELOS TRANSGÊNICOS	9
Marcello Barcinski	
A CAMINHO DA PREVENÇÃO PRIMÁRIA	10
Ernani Saltz e Maria Inez P. Gadelha	

VÍRUS NO CÂNCER HUMANO

Cerca de 15% dos casos de câncer no mundo inteiro estão associados a vírus. Dados experimentais e epidemiológicos indicam que os vírus são os principais agentes causais de algumas neoplasias, particularmente no câncer do colo uterino e no câncer do fígado. Em vista disso, os vírus deveriam ser considerados como importantes fatores de risco para o desenvolvimento de tumores malignos, apenas superados pelo consumo de tabaco. Estas afirmações constam de trabalho recentemente publicado pelo dr. Harald zur Hausen, diretor do Centro Alemão de Pesquisas sobre o Câncer, em Heildelberg.*

O estímulo à proliferação da célula infectada e a supressão da resposta imune do organismo atacado estão entre as formas de ação dos vírus que mais freqüentemente contribuem para o desenvolvimento de tumores no homem. Assim, pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) correm um risco muito maior de ter certos tumores, em especial os sarcomas de Kaposi e os linfomas das células B. Este exemplo, assim como o de outros vírus associados a neoplasias, reflete na maioria das vezes uma ação indireta do agente viral.

Embora faltem ainda dados que comprovem a relação causal, são muito consistentes as descobertas a respeito dos vírus da hepatite B (HBV), Epstein-Barr (EBV), da leucemia das células T (HTLV-I e possivelmente também o HTLV-II) e do papilomavírus (HPV). Nestes casos, o desenvolvimento de tumores parece uma consequência direta da infecção viral. Acredita-se que a persistência do genoma viral no hospedeiro provoque, entre outros efeitos, o estímulo da proliferação celular.

Dentre os vírus mencionados, a contribuição dos vírus EBV e HBV no desenvolvimento dos carcinomas nasofaríngeo e hepatocelular, respectivamente, continua obscura, apesar das inúmeras publicações sobre o tema. Já a relação entre o HTLV-I e certas leucemias e entre alguns tipos de HPV e os carcinomas anogenitais encontra apoio experimental e epidemiológico mais convincente.

No caso particular do papilomavírus, a síntese contínua de duas oncoproteínas virais parece necessária para o desenvolvimento de tumores malignos no trato anogenital. Entretanto, pouco se sabe sobre a participação de proteínas da célula hospedeira

VÍRUS ASSOCIADOS A TUMORES NO HOMEM		
Tipo de vírus	Tumor benigno	Tumor maligno
HBV	hiperplasia focal do fígado	carcinoma hepatocelular
EBV	mononucleose infecçioleucoplasia pilosa linfomas B em indivíduos imunossuprimidos	linfoma de Burkitt carcinoma nasofaríngeo
HPV tipos 5,8,14 17, 20	papilomas em pacientes com epidermodisplasia verruciforme (EV)	carcinomas de pele em áreas expostas ao Sol, transplantados renais e pacientes com EV
HPV tipos 6,11	verruca genital (condiloma)	carcinoma verrucoso da vulva e do pênis
HPV tipos 16,18,31*, 33,35*,39*, 45*,51*,52,56*, 58*,59*,61*	neoplasias intra-epiteliais cervicais, vulvares, penianas e perianais	carcinoma do colo uterino, da vulva, do pênis, anal e perianal
HTLV-I	leucemia oligoblástica	leucemia das células T adultas

* raramente encontrados

deira no controle da expressão dos genomas virais. Estudos nesse sentido deverão contribuir para a compreensão dos mecanismos de latência destes e de outros vírus.

É preciso mencionar, porém, que em nenhum caso foi possível demonstrar que a infecção por esses vírus é causa única e suficiente da neoplasia observada. Vários estudos indicam que fatores adicionais à presença do vírus certamente colaboram no processo de transformação maligna das células. Um bom exemplo é uma doença hereditária rara — a epidermodisplasia verruciforme. Os pacientes afetados têm uma predisposição muito aumentada ao aparecimento de carcinomas em papilomas contendo HPV tipo 5 ou 8, sobretudo em áreas do corpo expostas à luz solar. Além disso, observou-se maior freqüência de tumores em indivíduos que sofreram transplantes renais. Portanto, há uma participação combinada de determinados tipos de papilomavírus, da deficiência imunológica e de um

co-carcinógeno ambiental (luz ultravioleta) no processo de múltiplas etapas que é a tumorigênese.

De qualquer forma, é bastante razoável deduzir que medidas para controlar tais infecções virais levarão à redução da incidência de determinados tipos de câncer. O impacto dessas medidas poderá ser enorme, se considerarmos que 80% dos cânceres associados a vírus são carcinomas hepatocelulares e do colo uterino, estes últimos com grande incidência no Brasil.

* *Science*, vol. 254, p. 1.167-1.173, 1991

LUÍSA LINA VILLA
INSTITUTO LUDWIG DE PESQUISA SOBRE O CÂNCER

TOXINAS RECOMBINANTES NA TERAPIA DO CÂNCER

Antes de serem cristianizados, os povos nórdicos consideravam o visco (*mistletoe*) como uma planta sagrada. Na mitologia germânica, a morte de Balder, deus da luz, da alegria e da bondade, foi causada por uma flecha envenenada com extrato de visco, cuja ação tóxica, sabemos hoje, se deve a uma toxina que recebeu o nome de viscomina. As propriedades venenosas de lectinas tóxicas de origem vegetal, animal e bacteriana são conhecidas há muitos séculos, não surpreendendo, portanto, que essas substâncias tenham sido consideradas quando se começou a buscar uma terapia alternativa para a destruição de tumores.

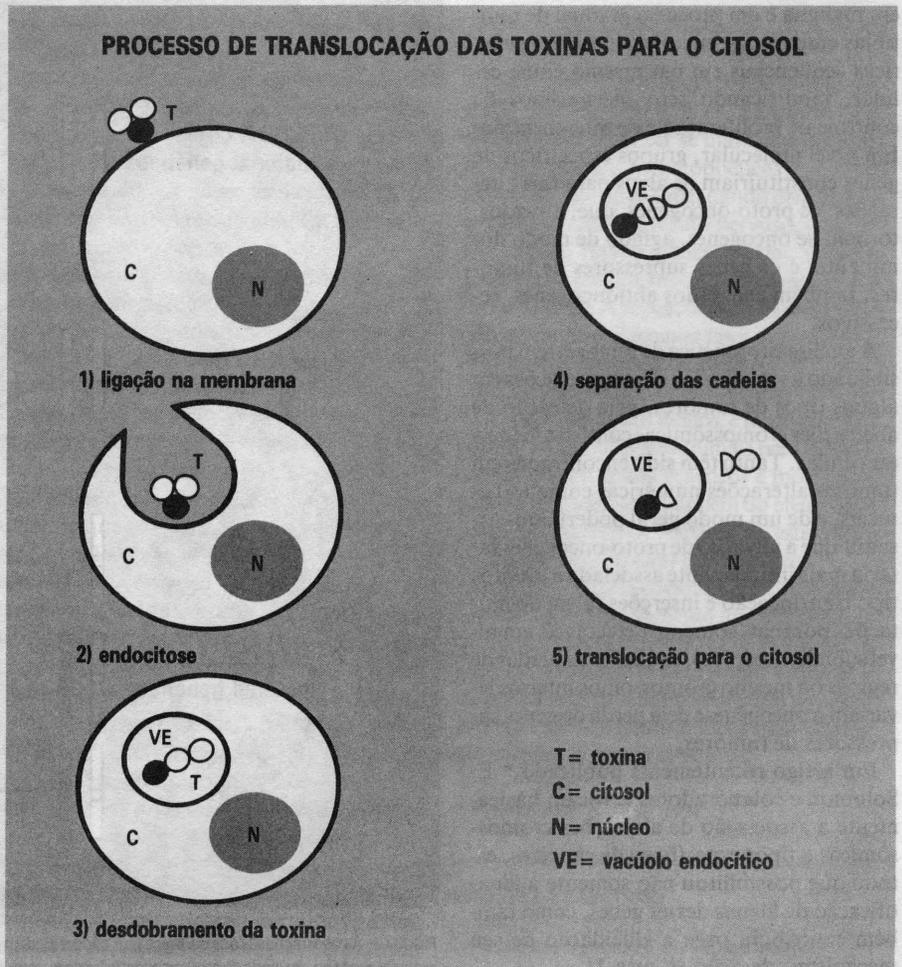
Na quimioterapia convencional, as drogas utilizadas possuem a desvantagem de não serem seletivas, o que leva à destruição não só das células tumorais mas também das normais, desencadeando assim profundos estados de deficiência do sistema imune e aplasia medular. Uma das maneiras de evitar esse problema seria direcionar tais drogas para determinadas células-alvo (neste caso, as células tumorais), tornando sua ação específica. Inicialmente pensou-se em combinar a esses quimioterápicos os anticorpos capazes de reagir com determinantes presentes na superfície das células tumorais. No entanto, apenas poucas moléculas de anticorpos ligam-se às células, o que torna muito pequena a concentração da droga que atinge o alvo. Nestas condições, para ser eficiente, o agente citotóxico precisaria ser extremamente ativo. Toxinas de bactérias e de plantas possuem esse requisito, estando entre as substâncias mais citotóxicas conhecidas: para que ocorra a morte celular, basta que umas poucas de suas moléculas atinjam o citoplasma da célula.

A criação das imunotoxinas foi um passo importante na tentativa de combinar seletividade de ação e eficiência. Para exercer sua capacidade citotóxica, as toxinas necessitam ligar-se à superfície celular, serem endocitadas e translocar a cadeia tóxica de dentro do vacúolo endocítico para o citosol, uma das duas regiões do citoplasma (ver figura). Na construção das imunotoxinas, a cadeia responsável pela interação com a superfície celular deve ser modificada ou abolida; a ligação passa a ocorrer então via anticorpo, o que confere especificidade ao produto. No entanto, a produção de imunotoxinas por métodos químicos de conjugação é cara, pois exige

grandes quantidades de anticorpos e toxina. Além disso, sendo heterogêneo o produto resultante, freqüentemente o sítio de ligação com o antígeno fica afetado e não é raro que as moléculas se dissociem *in vivo*, depois de terem sido injetadas.

Outra possibilidade, baseada em princípios semelhantes aos das imunotoxinas porém com algumas vantagens sobre elas, são as toxinas recombinantes, cujos problemas e perspectivas são discutidos em recente trabalho de Ira Pastan e David FitzGerald.* Toxinas recombinantes são proteínas citotóxicas híbridas, resultantes da tecnologia do ADN recombinante, e também matam células tumorais de modo seletivo. Elas são produzidas por meio da fusão de genes modificados das toxinas com elementos do ADN responsáveis pelo código genético que vai dar origem a fatores de crescimento ou para o sítio combinatório de anticorpos.

Esses genes quiméricos são então expressos na bactéria *Escherichia coli*, onde as toxinas recombinantes são preparadas. Desta forma torna-se possível produzi-las em massa, barateando seu custo e obtendo proteínas homogêneas. Tanto a exotoxina da *Pseudomona* (PE) quanto a toxina diftérica (DT) têm sido utilizadas nessas proteínas recombinantes, ao passo que o trabalho com moléculas baseadas em ricina (a toxina mais empregada em imunotoxinas) tem apresentado algumas dificuldades. Na parte da molécula responsável pela adesão celular, genes de vários fatores de crescimento foram utilizados, visto que vários tipos de câncer expressam quantidades aumentadas de receptores para fatores de crescimento. Para evitar que, em alguma circunstância, a fusão do fator de crescimento com a toxina e sua combinação com os receptores de superfície pu-



dessem promover o crescimento tumoral, procurou-se produzir recombinantes formados pelo sítio combinatório de anticorpos anti-receptor e toxina, pois os anticorpos são capazes de se ligar aos receptores para fatores de crescimento sem iniciar um processo de ativação do crescimento celular.

Já existem testes clínicos em andamento, tanto com imunotoxinas como com toxinas recombinantes. Ambas produzem a morte seletiva das células tumorais em cultura. As imunotoxinas têm sido clinicamente utilizadas para eliminar, *ex vivo*, células tumorais contaminantes na medula óssea, que são em seguida reinfundidas em pacientes recebendo transplante de medula óssea. Estão em andamento ensaios clínicos em que imunotoxinas são injetadas

diretamente em pacientes, mas só foram obtidos bons resultados nos casos de linfomas: nos tumores sólidos os resultados decepcionaram. As toxinas recombinantes estão sendo testadas em tumores de bexiga.

O maior problema encontrado no uso de tratamentos por toxinas deve-se ao fato de que essas substâncias são altamente imunogênicas: elas induzem o organismo a produzir rapidamente anticorpos que neutralizam a sua ação. No caso da toxina diftérica, como a maioria dos indivíduos já foi vacinada contra ela ao receber a vacina tríplice, os anticorpos neutralizantes já estão presentes no organismo. É importante, portanto, que se utilizem toxinas para as quais os pacientes não possuam anticorpos e que o tratamento seja rápido e eficaz, o que dificilmente ocorre com tumores sólidos.

No futuro, tratamentos envolvendo toxinas serão provavelmente adotados para destruir as poucas células residuais que possam existir após cirurgia e radioterapia, na tentativa de impedir eventuais metástases. Outro ponto importante é que o modo de ação das toxinas envolve um mecanismo tóxico diferente do dos quimioterápicos. Por isso elas podem vir a ser utilizadas em situações onde exista resistência a quimioterápicos convencionais.

* *Science*, 254, p. 1.173, 1991

VIVIAN RUMJANEK

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER

ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS

A transformação de uma célula normal em maligna é um processo gradual de múltiplas etapas, que envolve alterações genéticas seqüenciais em um mesmo clone celular, modificando seus mecanismos de controle de proliferação e de diferenciação. Em nível molecular, grupos específicos de genes constituiriam os alvos para tais alterações: os proto-oncogenes, que, ativados, tornam-se oncogenes, agindo de modo dominante; e os genes supressores de tumores, também chamados antioncogenes, recessivos.

A análise citogenética de tumores tem possibilitado a visualização de tais alterações em alguns tipos de tumores, pela detecção de aberrações cromossômicas consistentes nestas células. Tanto têm sido encontradas em tumores alterações numéricas como estruturais, e de um modo geral poderíamos assumir que a ativação de proto-oncogenes estaria mais intimamente associada a eventos tipo translocação e inserções (além de mutações pontuais somente detectáveis em nível submicroscópico), enquanto as perdas de regiões ou mesmo cromossomos inteiros levariam à oncogênese pela perda de genes supressores de tumores.

Em artigo recentemente publicado,* E. Solomon e colaboradores enfocam basicamente a associação de alterações cromossômicas a tipos específicos de cânceres, estudo que possibilitou não somente a identificação de alguns desses genes, como também contribuiu para a elucidação de seu mecanismo de ação (figura 1).

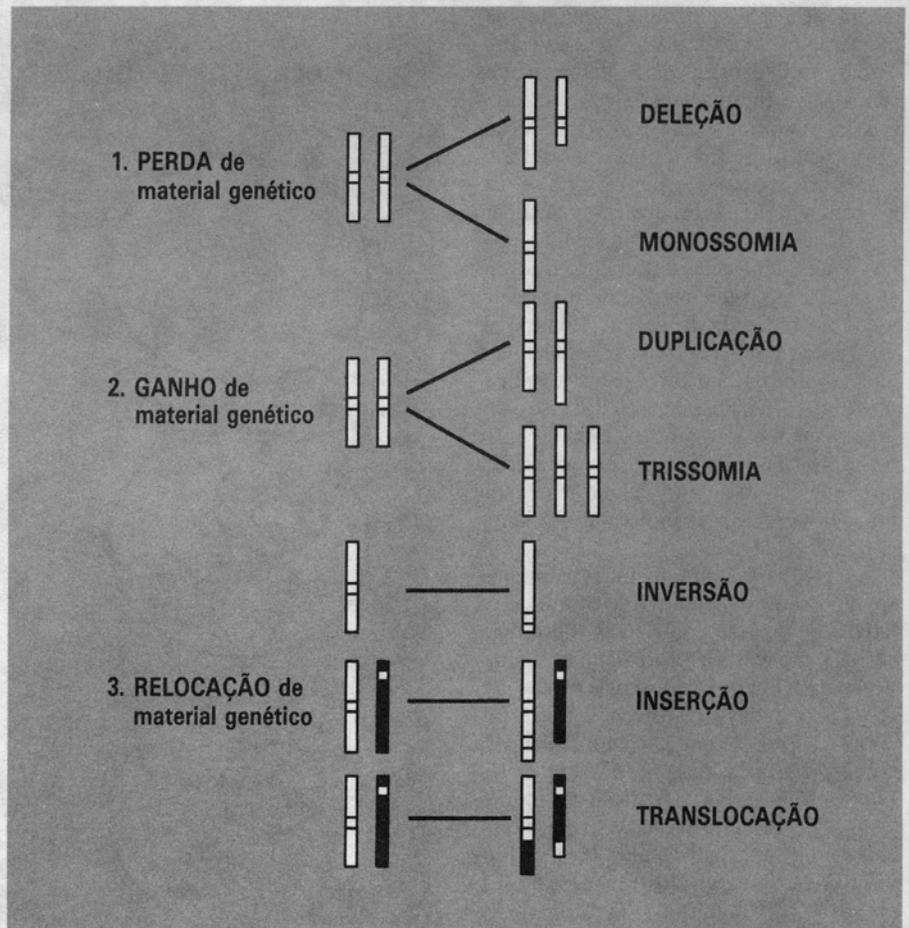


FIGURA 1. As aberrações cromossômicas no câncer podem em princípio exercer seu efeito através de ganho ou perda de material genético, ou ainda de mudanças estruturais ou regulatórias decorrentes da relocação de segmentos cromossômicos.

As translocações e inserções cromossômicas podem desencadear a expressão exacerbada ou ectotópica de determinados genes, em consequência de sua justaposição a seqüências promotoras ou *enhancers* (estimuladores) ativos no tipo celular do qual o tumor se origina. Mais de dez oncogenes foram descritos em associação com mecanismos de desregulação desse tipo, principalmente em cânceres hematológicos, envolvendo seqüências *enhancers* de imunoglobulinas e de receptores de células T (TCR).

Poucos casos descritos envolvem outros tipos de seqüências reguladoras. Os autores citam um rearranjo observado em adenomas de paratireóide; provavelmente é uma inversão entre o braço longo e o curto do cromossomo 11 que leva à justaposição dos elementos reguladores da transcrição do hormônio da paratireóide ao oncogene PRAD1 (que codifica uma proteína tipo ciclina, portanto relacionada à regulação do ciclo celular). Outra possível consequência de rearranjos cromossômicos seria a fusão de genes diferentes, determinando a síntese de proteínas quiméricas (assim chamadas por uma analogia com o monstro da mitologia grega, representado com a cabeça de leão, a parte dianteira de cabra e a parte traseira de um dragão). É o que ocorre na leucemia mielocítica crônica, em que a translocação entre os cromossomos 9 e 22 leva à fusão dos genes BCR e ABL. A proteína quimérica codificada, p210, mantém ativos os sítios de ambas as proteínas, agora reunidas em uma única (ABL - tirosina-quinase; BCR - proteína ativadora de guanosina-trifosfatase para p21^{ras}).

O artigo ressalta a diversidade de genes associados a leucemias e linfomas que já foram clonados a partir de pontos de quebra envolvidos em rearranjos cromossômicos. De um modo geral, esses genes estariam ligados a diferentes níveis de regulação do mecanismo de ativação da transcrição, que são críticos para o controle do ciclo celular e sua diferenciação. Eles podem ser agrupados em: (1) fatores de crescimento e seus receptores; (2) fatores de transcrição; (3) reguladores do ciclo celular; (4) determinantes de diferenciação celular e da morte programada da célula (*apoptosis*). Na leucemia linfocítica aguda pré-B (ALL pré-B), a translocação entre os cromossomos 5 e 14 provoca a desregulação do gene para interleucina 3 (IL-3), aumentando a produção de glóbulos brancos. Esse efeito pode ser compensado por antagonistas de IL-3, terapia alternativa viável e eficiente para este tipo de leucemia, surgida a partir da caracterização molecular de seu rearranjo cromossômico (figura 2).

Efeitos mais complexos foram observados em outros tipos de cânceres. A translocação t(15; 17) (q22; q11.2-12), observada na leucemia promielocítica, acarreta a fusão da região NH₂-terminal de uma proteína tipo *zinc finger* (PML) à região COOH-terminal do alfa-receptor para ácido retinóico (ARAR), codificado por um gene localizado no cromossomo 17. O fator de transcrição quimérico retém o *zinc finger* de ambas as moléculas, assim como o domínio ligante de ARAR, resultando na regulação aberrante dos genes envolvidos na diferenciação mielocítica.

A caracterização molecular e a recorrência de determinadas translocações e inserções cromossômicas específicas em leucemias e linfomas atestam sua participação na etiologia da doença. Entretanto, isto não significa que sua presença seja suficiente para levar ao aparecimento do fenótipo maligno nessas células, sendo necessários fatores adicionais. O linfoma de Burkitt e a leucemia de células T estão associados à presença dos vírus Epstein-Barr e TCL, respectivamente. Admite-se que o vírus aumentaria a taxa de proliferação celular, favorecendo o aparecimento de um segundo evento (mutação ou translocação), que levaria à transformação celular.

Nos tumores sólidos, além das translocações, inserções e inversões, observa-se alta frequência de deleções intersticiais, ou monossomias e amplificação gênica (trisomias, *double minutes* e regiões homogeneamente coradas — HSR). Isto sugere por si só um quadro mais complexo. Até o mo-

mento, nenhuma translocação foi clonada nesses tumores. As aberrações cromossômicas numéricas, deleções e amplificações alteram a dose de grandes blocos de genes e, portanto, dificultam a identificação do gene (ou genes) específico, responsável pela indução da transformação do fenótipo dessas células.

Algumas deleções específicas foram associadas a genes supressores de tumores, o que permitiu sua clonagem molecular: a região 13q14 em retinoblastoma, 17p e 18q no carcinoma colo-retal e 11p13 no tumor de Wilms. Outras deleções podem ser comuns a grupos de tumores: 3p13-23 ao carcinoma de células pequenas e ao adenocarcinoma de pulmão; 1p11-22 ao carcinoma de mama, melanoma, leiomioma, mesotelioma e fibro-histiocitoma; 1p21-23 ao carcinoma de útero e de bexiga, entre outros.

Em alguns tumores sólidos, a amplificação de oncogenes pode ter valor prognóstico, assim como valores aneuplóides de ADN nuclear (aneuploidia: quantidade de ADN diferente da normal). No trabalho em questão, nos deparamos com uma quantidade muito menor de informações a respeito dos tumores sólidos, embora eles representem a maioria dos tumores humanos. Em seu *Catálogo de aberrações cromossômicas em câncer*, F. Mitelman (1991) já havia assinalado que mais de 80% dos dados citogenéticos em tumores se referem a leucemias e linfomas. Tal fato deve ser consequência, por um lado, de dificuldades metodológicas para obtenção de metafases quantitativa e qualitativamente analisáveis e, por outro, da detecção de um grande número de aberrações cromossômicas num mesmo tumor, o que dificulta a identificação das aberrações primárias.

Poderíamos tentar justificar esse quadro admitindo que os tumores sólidos seriam detectados em fases mais avançadas de sua progressão. Entretanto, preferimos concordar com a colocação de E. Solomon e colaboradores, quando ressaltam a importância da análise citogenética associada à molecular para reconhecimento do processo de carcinogênese, com a perspectiva de que esses dados sejam aplicados na melhoria do diagnóstico, do prognóstico e da terapia da doença.

* *Science*, 254, p. 1.153-1.160, 1991

GLÁUCIA M. MACHADO-SANTELLI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS,
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

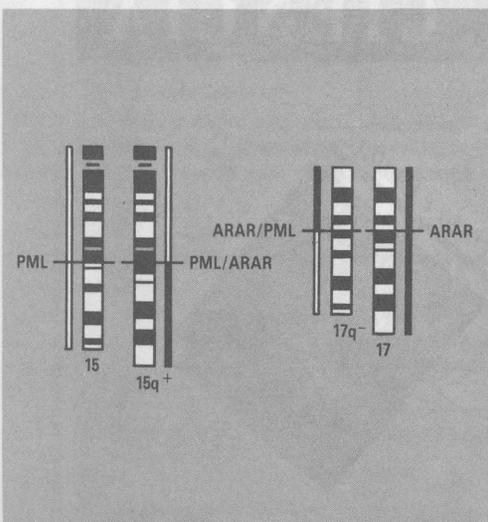


FIGURA 2. Alteração observada na leucemia promielocítica aguda (APL): translocação t(15;17) (q22; q11.2-12)

GENES SUPRESSORES

Há algumas décadas foi postulado e demonstrado que a transformação neoplásica das células é um evento que ocorre pelo menos em duas etapas, definidas como iniciação e promoção. Em geral, verifica-se que entre elas há inúmeras etapas intermediárias, o que explica por que o câncer é uma moléstia degenerativa, acometendo principalmente pessoas em idade adulta. Os hoje chamados oncogenes foram inicialmente encontrados em células transformadas por vírus e revelaram-se responsáveis pela proliferação e diferenciação das células normais (ver 'Vírus no câncer humano'). Mais tarde foi demonstrado que tais oncogenes, expressos de maneira aberrante, estão implicados na iniciação e na promoção da transformação neoplásica. Isso porque é necessária a transfecção (introdução de material genético — genes — na célula) de pelo menos dois oncogenes ativados para que tal transformação ocorra. Estudos complementares deixaram patente que um dos oncogenes deve ser citoplasmático e o outro nuclear, isto é, eles devem codificar respectivamente proteínas localizadas no citoplasma e no núcleo da célula.

Por outro lado, sabe-se que a fusão de células transformadas com células normais suprime o fenótipo transformado. Entretanto, quando ocorre perda de cromossomos específicos no cariótipo instável característico dessas células híbridas, há reversão ao fenótipo transformado. Isso evidencia que tal fenótipo é uma herança recessi-

va e que células normais expressam genes supressores, que obviamente regulam a atividade ou a expressão dos oncogenes.

Depois dessas descobertas, a existência de genes supressores foi amplamente confirmada pelo estudo de uma série de neoplasias humanas. Inicialmente foram estudados tumores pediátricos, como retinoblastoma, tumores de Wilms, osteossarcoma e rabdomyosarcoma. Os genes supressores foram objeto de revisão recente.* Alfred Knudson, do Fox Chase Cancer Center (Filadélfia, EUA), postulou que o retinoblastoma humano seria provocado por duas lesões genômicas sucessivas. Nos casos esporádicos, sem história familiar da doença, tais lesões seriam mutações somáticas que ocorreriam muito depois da concepção; nas formas hereditárias, uma das mutações seria herdada de um dos genitores, que carregaria o estigma.

Muito mais recentemente, demonstrou-se que os alvos postulados por Knudson eram as duas cópias do gene RB (que codifica a proteína p105), localizado na banda 13q14 do cromossomo 13. Os dois eventos mutacionais propostos por Knudson teriam como função a inativação dessas duas cópias.

A perda de genes supressores foi também constatada na gênese de tumores de adultos, hereditários (neoplasia endócrina múltipla, doença de Von Hippel-Lindau) ou não (adenocarcinoma de mama ou cólon, câncer de bexiga e outros). Desta forma,

a detecção de redução à homozigose ou perda da heterozigose (LOH) passou a constituir importante ferramenta para o diagnóstico.

De um ponto de vista epidemiológico, a perda ou inativação de uma cópia de um gene supressor pode caracterizar um grupo de pessoas com risco de desenvolvimento de um tumor maligno. Conforme vimos acima, basta apenas um evento-perda da outra cópia, ou a ativação de um oncogene por mutação, translocação ou amplificação, para que a transformação maligna ocorra nessas pessoas.

De um ponto de vista mecânico, aparentemente há genes supressores envolvidos na interação com a matriz extracelular (DCC perdido no adenocarcinoma de cólon), na transdução citoplasmática do sinal mitogênico (NF 1, no caso da doença de Von Recklinghausen), na regulação da progressão através do ciclo celular (RB, no retinoblastoma, entre outros tumores), e na diferenciação celular (erbA, nas eritroleucemias aviárias).

* *Science*, 254, p. 1.138-1.146, 1991

RICARDO RENZO BRENTANI
INSTITUTO LUDWIG DE PESQUISA SOBRE O CÂNCER
(SP)

A SOBREVIVÊNCIA DA CIÊNCIA

ASSINE JÁ

São Paulo
Tel.: (011) 211-5008
(011) 211-0933

Rio de Janeiro
Tel.: (021) 295-6198



FATORES DE CRESCIMENTO

Os organismos multicelulares apresentam mecanismos complexos para o controle das interações celulares. A relação íntima entre fatores de crescimento, citocinas e seus receptores resulta na ativação ou na repressão de vários tipos de genes, envolvendo os processos de proliferação e diferenciação celular.

As células malignas são o resultado de uma progressão de eventos genéticos que incluem a expressão desregulada de fatores de crescimento ou componentes da sua via de ativação.*

Fatores de crescimento — Regulação da resposta mitogênica e câncer. Certos fatores de crescimento determinam que células em repouso ou na fase G_0 prossigam no ciclo celular [G_0 = fase inicial do ciclo celular, que antecede a divisão mitótica].

Por outro lado, a presença de certas citocinas, como o TGF- β (fator de transformação de crescimento β) e o TNF (fator de necrose tumoral), antagoniza os efeitos proliferativos, impedindo que a célula entre em mitose (figura 1).

A relação próxima destes elementos e a desregulação mitótica representada pelo processo de carcinogênese foram estabelecidas ao se verificar que vários oncogenes retrovirais imprimem seu código genético a vários fatores de crescimento, receptores com atividade tirosina-quinase e outras enzimas que participam ativamente no ciclo mitótico.

Vários receptores de fatores de crescimento estão situados na membrana celular e intermedeiam os efeitos dos seus substratos através de atividade intrínseca da

EXTRAÍDO DE SCIENCE, 254, 1991)

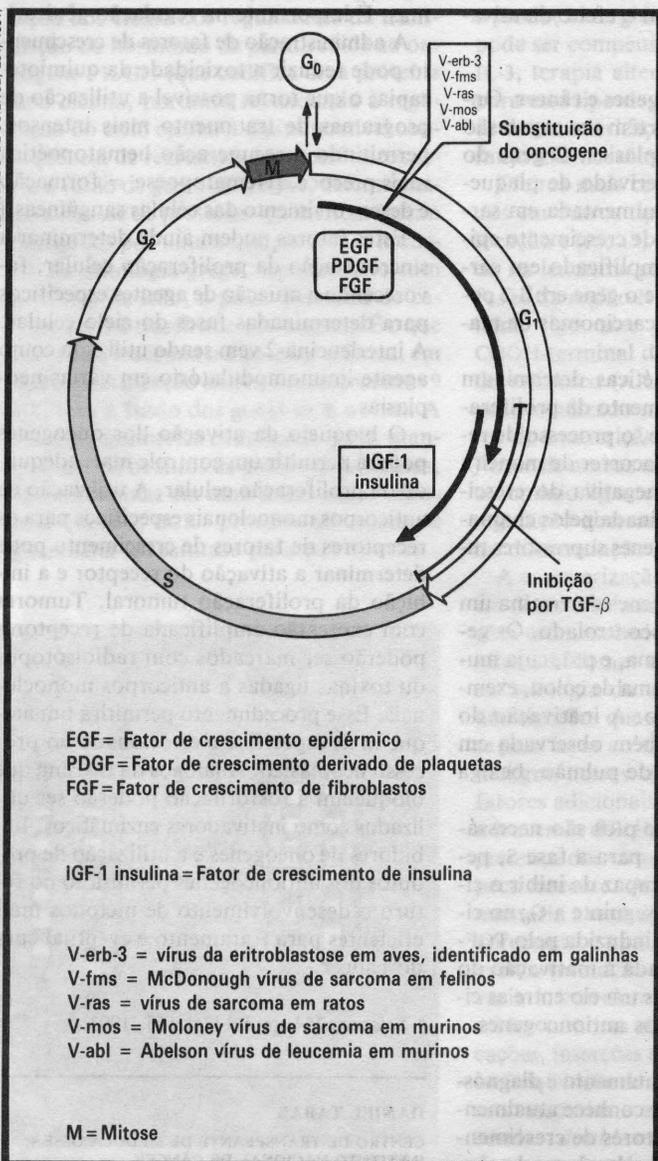


Figura 1. Fatores de crescimento e o ciclo celular.

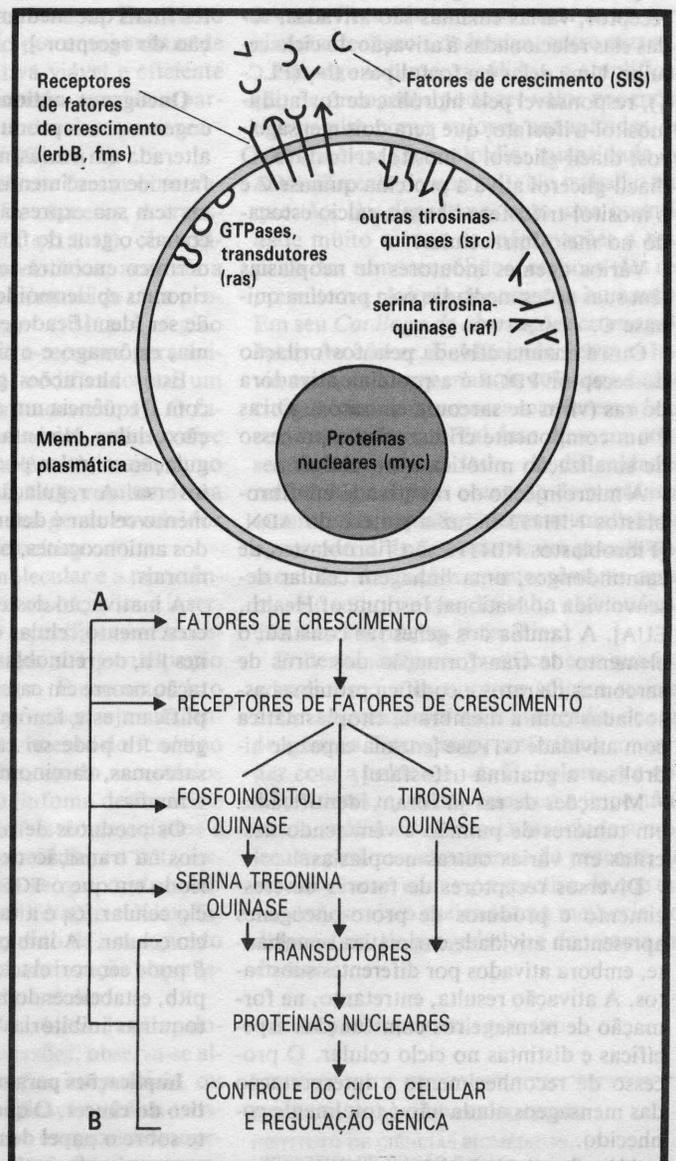


Figura 2. Relações anatômicas e funcionais de proteínas proto-oncogênicas.

MODIFICADO DE THE MOLECULAR BASIS OF BLOOD DISEASES, STAMATOYANNPOULOS, G., W.B. SAUNDERS CO., 1987, P. 326.)

tirosina-quinase. Esta enzima, ativada, é responsável pela fosforilação e conseqüente regulação de vários outros sistemas enzimáticos, responsáveis, por sua vez, pela seqüência do ciclo celular (figura 2).

Substratos de receptores com atividades tirosina-quinase. O sistema PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas) serve como protótipo para identificar as relações entre as proteínas derivadas de proto-oncogenes e o ciclo celular.

O proto-oncogene C-SIS codifica a cadeia β do PDGF. C-SIS é o correspondente humano do oncogene V-SIS (vírus de sarcoma em símios), cuja proteína é homóloga ao PDGF.

Quando ocorre a ligação do PDGF ao seu receptor, várias enzimas são ativadas, todas elas relacionadas à ativação do ciclo celular. Uma delas é a fosfolipase C- γ (PLC- γ), responsável pela hidrólise de fosfatidilinositol-trifosfato, que gera dois mensageiros: diacil-glicerol e inositol-trifosfato. O diacil-glicerol ativa a proteína quinase C e o inositol-trifosfato libera o cálcio estocado no meio intracelular.

Vários agentes indutores de neoplasias têm suas ações mediadas pela proteína quinase C.

Outra enzima ativada pela fosforilação do receptor PDGF é a proteína ativadora do ras (vírus de sarcoma em ratos). O ras é um componente crítico para o processo de sinalização mitótica intracelular.

A microinjeção do ras ativado em fibroblastos NIH3T3 induz a síntese do ADN. [Fibroblastos NIH3T3 são fibroblastos de camundongos, uma linhagem celular desenvolvida no National Institute of Health, EUA]. A família dos genes ras constitui o elemento de transformação dos vírus de sarcomas de ratos e codifica proteínas associadas com a membrana citoplasmática com atividade GTPase [enzima capaz de hidrolisar a guanina-trifosfato].

Mutações de ras já foram identificadas em tumores de pulmão e vêm sendo descritas em várias outras neoplasias.

Diversos receptores de fatores de crescimento e produtos de proto-oncogenes apresentam atividade enzimática semelhante, embora ativados por diferentes substratos. A ativação resulta, entretanto, na formação de mensageiros com funções específicas e distintas no ciclo celular. O processo de reconhecimento e interpretação das mensagens ainda não é totalmente conhecido.

Além da atividade tirosina-quinase, duas classes de receptores distintos estão envol-

vidas no processo de proliferação celular. Uma delas inclui os receptores de interleucina-2 (IL-2), IL-3, GM-CSF e G-CSF. Esses receptores são glicoproteínas cuja ativação também resulta em fosforilação protéica. Um exemplo da ativação destes receptores, relacionado ao processo de transformação, é o aumento da expressão da proteína IL-2 e de seu receptor, observado em tumores linfóides relacionados à infecção por HTLV-1 (um dos vírus causadores da AIDS).

Neurotransmissores constituem a outra classe de moléculas capazes de determinar a estimulação mitogênica. A ligação destas substâncias a seus receptores determina o aparecimento de efetores, como adenil-ciclase e fosfolipase. [Efetores são agentes finais que mediarão o efeito da ativação do receptor.]

Oncogenes, antioncogenes e câncer. Oncogenes e seus produtos têm sua expressão alterada em várias neoplasias. O gene do fator de crescimento derivado de plaquetas tem sua expressão aumentada em sarcomas; o gene do fator de crescimento epidérmico encontra-se amplificado em carcinomas epidérmicos; e o gene *erbB-2* pode ser identificado em carcinomas de mama, estômago e ovário.

Estas alterações genéticas determinam com freqüência um aumento da proliferação celular. No entanto, o processo de regulação mitótica pode ocorrer de maneira inversa. A regulação negativa do crescimento celular é determinada pelos chamados antioncogenes, ou genes supressores tumorais.

A inativação destes genes determina um crescimento celular descontrolado. Os genes Rb, do retinoblastoma, e p53, cuja mutação ocorre em carcinoma de cólon, exemplificam este fenômeno. A inativação do gene Rb pode ser também observada em sarcomas, carcinomas de pulmão, bexiga e mama.

Os produtos de p53 e pRB são necessários na transição de G_1 para a fase S, período em que o TGF é capaz de inibir o ciclo celular. [G_1 é a fase seguinte a G_0 no ciclo celular.] A inibição induzida pelo TGF- β pode ser correlacionada à inativação do pRB, estabelecendo mais um elo entre as citocinas inibitórias e os antioncogenes.

Implicações para o tratamento e diagnóstico do câncer. O que se conhece atualmente sobre o papel dos fatores de crescimento e as vias de sinalização da gênese do câncer já permite fazer um melhor diagnósti-

co, definir com mais precisão o prognóstico e oferecer tratamentos mais específicos a várias neoplasias.

Sondas moleculares específicas para rearranjos genéticos em linfomas e na leucemia mielóide crônica estão sendo utilizadas para diagnóstico e acompanhamento clínico durante o tratamento. Em neuroblastomas, a amplificação de N-Myc tem valor prognóstico, identificando os tumores mais agressivos. [N-Myc é um oncogene cuja seqüência é homóloga ao vírus da mielocitomaose, identificado inicialmente em galinhas. A abreviatura vem do m e do y de *myelocytomastosis*, mais o c de *chicken/galinha*. Esta seqüência pode ser identificada no genoma de várias neoplasias humanas: carcinoma de pulmão, neuroblastomas. É importante na regulação gênica.]

A administração de fatores de crescimento pode reduzir a toxicidade da quimioterapia, o que torna possível a utilização de programas de tratamento mais intensos, permitindo a recuperação hematopoética mais precoce. [Hematopoese = formação e desenvolvimento das células sanguíneas.]

Estes fatores podem ainda determinar a sincronização da proliferação celular, favorecendo a atuação de agentes específicos para determinadas fases do ciclo celular. A interleucina-2 vem sendo utilizada como agente imunomodulatório em várias neoplasias.

O bloqueio da ativação dos oncogenes poderá permitir um controle mais adequado da proliferação celular. A utilização de anticorpos monoclonais específicos para os receptores de fatores de crescimento pode determinar a ativação do receptor e a inibição da proliferação tumoral. Tumores com expressão amplificada de receptores poderão ser marcados com radioisótopos ou toxinas ligadas a anticorpos monoclonais. Esse procedimento permitirá um ataque mais específico e direcionado ao processo neoplásico. Análogos da tirosina que bloqueiam a fosforilação poderão ser utilizados como inativadores enzimáticos. Inibidores de oncogenes e a utilização de produtos dos antioncogenes permitirão no futuro o desenvolvimento de métodos mais eficientes para tratamento e eventual cura do câncer.

* *Science*, 254, p. 1.147-1.153, 1991

DANIEL TABAK

CENTRO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA,
INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER

MODELOS TRANSGÊNICOS

Embora os enormes avanços na pesquisa biomédica tragam novas possibilidades de tratamento, controle e profilaxia de diversos tipos de neoplasias malignas, o câncer continua sendo um dos maiores desafios para a ciência médica, uma vez que ainda é uma das causas mais freqüentes de sofrimento e morte na humanidade. Uma das mais importantes descobertas da pesquisa em câncer foi a de que a grande maioria, senão a totalidade, das células malignas envolvidas no processo de cancerização contém lesões genéticas.

Essas lesões genéticas ocorrem em certos genes, existentes nas células normais, que codificam moléculas presentes nos processos de indução e controle da multiplicação e do crescimento celular. Quando alterados, esses genes participam do mecanismo de malignização e por isso foram chamados de oncogenes (onco = câncer). Os genes normais que sofrem a mutação acima descrita foram chamados de proto-oncogenes (precursores dos oncogenes). No trabalho *Transgenic Models of Tumor Development*,* os autores descrevem os progressos obtidos e as perspectivas da pesquisa em câncer a partir de animais transgênicos usados experimentalmente como modelos de desenvolvimento de neoplasias malignas.

Animais transgênicos são animais experimentais derivados de embriões em cujas células foram introduzidos artificialmente um ou vários genes que codificam produtos cuja função ou funções devem ser estudadas. Portanto, os animais que funcionam como modelos para estudo dos processos de malignização são os transgênicos obtidos a partir de embriões nos quais foram introduzidos diferentes oncogenes.

A produção desses animais é feita em laboratório da seguinte maneira: óvulos recém-fecundados são extraídos de camundongos fêmeas e microinjetados com ADN contendo várias cópias do gene em estudo. Esses ovos são então recolocados em fêmeas pseudogravídas (preparadas para desenvolver dentro de si os embriões, como 'mães de aluguel'), e a gestação prossegue até o nascimento dos camundongos. Dependendo do momento exato em que o gene introduzido se integra ao patrimônio genético do óvulo recém-fecundado, os recém-nascidos terão este gene em todas as suas células ou somente em alguns tecidos. Se o gene se integrar na linhagem germinativa, os camundongos poderão transmiti-lo às suas gerações futuras e assim estabelecer uma linhagem permanente de camundongos transgênicos.

A introdução de um determinado oncoge-

UMA DAS MAIS IMPORTANTES DESCOBERTAS DA PESQUISA

EM CÂNCER FOI A DE QUE A GRANDE MAIORIA, SENÃO A

TOTALIDADE, DAS CÉLULAS MALIGNAS ENVOLVIDAS NO

PROCESSO DE CANCERIZAÇÃO CONTÉM LESÕES GENÉTICAS.

ne pode ser feita junto com a de certas seqüências gênicas regulatórias, capazes de limitar a expressão do oncogene a apenas alguns tecidos. Desta maneira, esses animais permitem o estudo das seqüências da expressão de oncogenes definidos em múltiplos tecidos ou em um tecido específico.

O desenvolvimento de um câncer é um processo seqüencial multifatorial, no qual diferentes oncogenes podem estar envolvidos. Ele exige mutações sinérgicas (aquelas nas quais a soma dos diferentes fatores aumenta o efeito total) até o completo estabelecimento do processo. Este fato implica a existência de um estado pré-canceroso, cujo estudo é extremamente difícil ou até mesmo impossível, uma vez que suas características são de difícil detecção ou às vezes totalmente indetectáveis. O processo 'normal' de cancerização envolve mutação em um proto-oncogene, que gera um oncogene, seguindo-se a expansão da população das células que sofrerem mutação. Desta forma, cria-se o estado pré-neoplásico.

No estado pré-neoplásico, o animal é extremamente suscetível à malignização. Em um animal transgênico, todo esse processo sofre um 'curto-circuito', uma vez que ele já nasce no estado pré-canceroso, ou seja, com a expansão clonal de células contendo um dado oncogene. Portanto, ele já nasce com a suscetibilidade à cancerização, permitindo assim o estudo do estado pré-neoplásico e de sua evolução para a malignização.

O trabalho mencionado descreve os modelos de animais transgênicos já existentes e os tecidos onde o câncer se manifesta em cada um deles: células hematopoéticas (precursores das células do sangue) dando origem a diferentes leucemias, tecido nervoso, pele, vasos, mama, fígado, pâncreas, rim, coração, pulmão, estômago, osso e cartilagem, cristalino e hipófise. A seguir, os autores mostram o sinergismo entre diferentes tipos de oncogenes, descrevem a existência de genes supressores da cancerização e o fato de que alguns oncogenes só malignizam alguns tecidos, e finalmente analisam o potencial desses animais para o estudo não só dos processos genéticos e moleculares da malignização, mas também do efeito de fatores carcinogênicos (capazes de estimular a ocorrência de cânceres) e terapêuticos.

É interessante mencionar aqui que atualmente estão em andamento nos Estados Unidos e na Europa pendências judiciais provenientes das tentativas de algumas instituições de pesquisa de registrar patentes das linhagens de camundongos transgênicos para oncogenes criadas por seus cientistas.

* *Science*, 254, p. 1.161, 1991

MARCELLO BARCINSKI

INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO,
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

A CAMINHO DA PREVENÇÃO PRIMÁRIA

O câncer vem se constituindo já há alguns anos na principal causa da morte de mulheres nos Estados Unidos e a previsão é de que esse quadro não se altere até o ano 2000. Tal afirmação decorre da observação de que a mortalidade proporcional pela doença aumenta diante da redução do número de óbitos por doenças cardiovasculares (que diminuiu em 55% de 1950 a 1987), e não só pelo aumento de mortes por câncer.

A mudança verificada no perfil de mortalidade dos norte-americanos deve-se principalmente à redução do tabagismo, à melhor detecção e tratamento da hipertensão arterial, à diminuição das taxas de colesterol sanguíneo em função da adoção de dieta pobre em gorduras, e à evolução verificada no tratamento das doenças cardiovasculares.

No Brasil, nos últimos 50 anos, grandes variações no perfil da mortalidade foram constatadas: a mortalidade proporcional por doenças cardiovasculares e câncer apresenta aumentos progressivos, tanto pela diminuição dos óbitos por doenças infecto-contagiosas, como pelo próprio aumento de incidência de câncer, superada apenas pela das doenças cardiovasculares. O câncer representa a segunda *causa mortis* nas regiões Sudeste e Sul e a terceira nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, excetuando-se as causas externas (trauma).

Em 1986 foram registrados no Brasil 811.564 óbitos, dos quais 225.793 em virtude de doenças cardiovasculares, 73.897 de câncer e 95.968 de causas externas. As taxas de mortalidade por câncer do colo uterino, estômago, cólon e reto, bexiga, endométrio, testículos, tireóide, boca, faringe e doença de Hodgkin têm diminuído. Várias causas concorrem para esse resultado: melhor preservação dos alimentos com o uso de refrigeradores e *freezers*, melhoria do padrão alimentar, detecção e tratamento de lesões em fase pré-maligna ou maligna inicial, aplicação de tratamentos especializados mais eficazes, principalmente em cânceres que não podem, dentro do conhecimento atual, ser prevenidos ou detectados precocemente.

Já a mortalidade por câncer de pulmão (e também por melanoma maligno, linfomas malignos e mieloma múltiplo) tem aumentado, apesar de toda a incorporação de meios para diagnóstico e terapia à prática médica. Sem dúvida, o aumento do con-

sumo de cigarros, verificado entre 1900 e 1960, elevou o câncer de pulmão da posição de doença rara à liderança da mortalidade por câncer.

Em 1986 o câncer de pulmão nas mulheres já superava como *causa mortis* o câncer de mama. Acredita-se que as taxas de mortalidade que a ele se devem vão continuar a subir, pelo menos nos próximos dez anos, quando começarão a ser colhidos os frutos do combate ao tabagismo, desencadeado a partir dos anos 60. No Brasil, houve uma progressão do câncer de pulmão de 1979 a 1986, entre homens e mulheres, até tornar-se a mais importante causa de mortalidade por câncer no país.

Explica-se o aumento da mortalidade por melanoma maligno (um tipo de câncer muito mais incidente em pessoas de pele clara) pela maior exposição ao Sol. O aumento de mortalidade por mieloma múltiplo e linfomas malignos pode ser explicado, pelo menos em parte, pela melhoria das técnicas de diagnóstico, que permitem esclarecer um número maior de casos. Em pessoas jovens, porém, certos tipos de linfomas podem estar associados à prevalência crescente da infecção pelo vírus HIV, da AIDS. Com relação aos cânceres de mama e próstata, a detecção precoce tem aumentado o número de casos diagnosticados, o que, se não produziu alterações nas taxas de mortalidade, pelo menos prolongou e melhorou muito a qualidade de vida dos pacientes.

Observações interessantes sobre a comparação entre os dados de incidência e mortalidade por câncer nos Estados Unidos, de 1973 a 1987, podem ser feitas: (1) a universalização do uso da tomografia computadorizada explica o aumento de 20% na incidência de tumores do cérebro e de outras partes do sistema nervoso central; (2) o aumento 'real' verificado na incidência dos tumores do sistema nervoso central tem sido relacionado à exposição aos raios X, através de aparelhos antigos, principalmente usados em consultórios dentários; (3) outros tumores têm apresentado taxas de incidência e de mortalidade variáveis: os cânceres de esôfago e rim apresentam taxas aumentadas de incidência e mortalidade; os de cólon e fígado, taxa de incidência aumentada, mas de mortalidade rebaixada; a maioria desses cânceres se relaciona aos efeitos do tabagismo e do alcoolismo, isolados ou associados.*

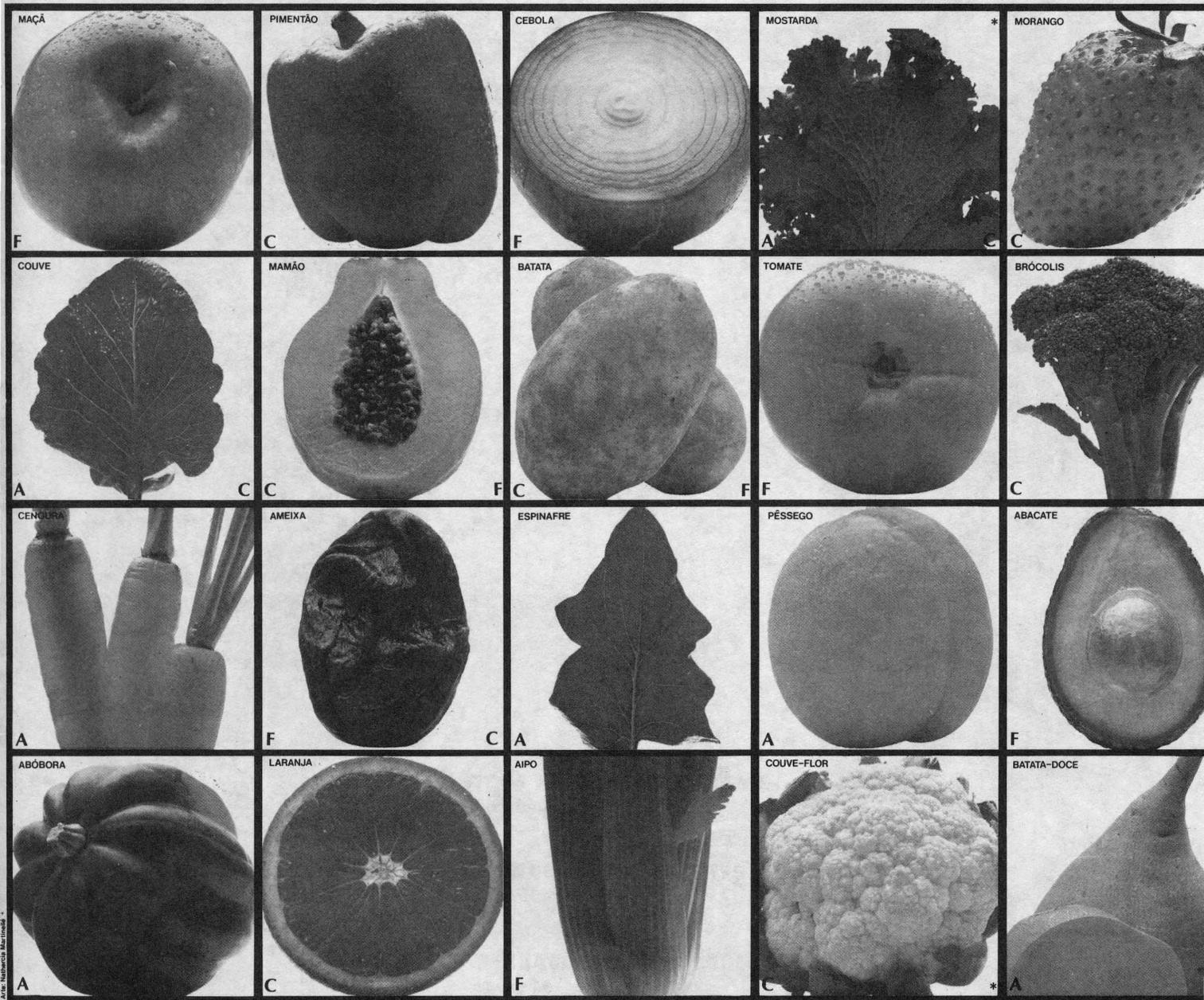
Nos Estados Unidos, no período focalizado, a incidência do câncer aumentou em 14,6% e a mortalidade em 5,4%, e esses índices refletem vários fatores, entre eles a melhoria dos meios diagnósticos e sua disseminação às várias especialidades médicas; o acesso da população às informações sobre o câncer; a organização do sistema de saúde, que garante o atendimento a todos os que o buscam; a adoção de programas de prevenção em todos os níveis (manutenção da saúde, prevenção de doenças, diagnóstico precoce, tratamento em condições ótimas e reabilitação); e o seguimento dos indicadores de saúde da população.

De todos os fatores assinalados, a prevenção primária (manutenção da saúde) e a secundária (prevenção de doenças, com tratamentos de lesões em fase pré-maligna, diagnóstico e tratamento de lesões *in situ*) são os que mais repercutem sobre as taxas de incidência e mortalidade, sendo também as medidas mais viáveis, do ponto de vista econômico.

Para atuar nessas duas fases, faz-se necessário intervir sobre as causas do câncer, ou seja, sobre os ajustes físicos, químicos e biológicos que o provocam, os quais devem ser removidos com qualquer tempo (exceto se excessivamente tarde) para que se consiga prevenir ou retardar o completo desenvolvimento do câncer. Combater o tabagismo de qualquer natureza, ativo ou passivo, sob qualquer forma, seja aspirado ou mascado, sob qualquer grau ou teor, reduziria em 1/3 os casos de câncer, sobretudo na boca, esôfago, faringe, laringe, pâncreas e bexiga.

Uma dieta rica em vegetais e frutas frescas, em cereais integrais (fibras), sem excesso de carne vermelha, gordura animal, carboidratos e álcool, e que não inclua alimentos em conserva (conservados em sal ou em pickles), nem defumados ou do tipo churrasco, resulta numa incidência menor de cânceres de estômago, cólon e reto, mama, endométrio, ovário, próstata e nasofaringe. Especialmente relacionados ao consumo excessivo de álcool estão os cânceres de boca, faringe, laringe, esôfago, fígado, cólon e reto, e o câncer da mama na mulher. A ingestão adequada de vitaminas E, C e B-caroteno se diz benéfica contra o desenvolvimento de cânceres de boca, pulmão, esôfago, cólon e pele.

Muitos outros fatores estão envolvidos na gênese do câncer. Entre eles, hormônios



[A] FONTE DE VITAMINA A [C] FONTE DE VITAMINA C [F] FONTE DE FIBRAS [*] VEGETAL CRUCÍFERO

(cânceres do endométrio, próstata e mama); infecções por vírus da mononucleose infecciosa, hepatite B, papilomatose (AIDS, linfomas, hepatomas, câncer do colo uterino etc.), medicamentos (câncer do rim), radiação solar (câncer de lábios e pele), radiação através de exames radiológicos dentários e médicos (leucemia e cânceres de mama e tireóide); trauma ou irritação crônica (cálculos biliares, em câncer de vesícula; asbestose, em câncer de pleura; trauma cefálico, em meningioma; infecção por

Helicobacter pylori, em câncer gástrico etc.). Aqueles fatores aos quais se expõem as pessoas nos seus ambientes de trabalho são também importantes na gênese do câncer.

Assim, deve-se buscar a redução da incidência do câncer através da redução dos fatores de risco e da prevenção. Além disso, o controle do câncer também é feito por meio da diminuição da taxa de mortalidade, obtida através do diagnóstico e do tratamento especializado de lesões malignas

em fases iniciais. Há cânceres que podem ser controlados por uma das estratégias ou por ambas, simultaneamente.

* *Science*, 254, p. 1.131-1.136, 1991

ERNANI SALTZ e
MARIA INEZ P. GADELHA

CENTRO DE PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO DE CâNCER,
INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER