

Genética e Câncer

O câncer é uma das doenças mais comuns e graves vistas na medicina clínica. As estatísticas mostram que algumas formas de câncer atacam mais de um terço da população e contribuem com mais de 20% de todas as mortes, sendo a doença responsável por mais de 10% do custo total com cuidados médicos nos países desenvolvidos. O câncer é invariavelmente fatal, se não for tratado. O diagnóstico precoce e o tratamento imediato são vitais, e a identificação de pessoas em risco aumentado de câncer antes de seu desenvolvimento é um objetivo importante das pesquisas do câncer.

Neste capítulo, destacaremos que *o câncer é fundamentalmente uma doença genética* (boxe). Descreveremos os tipos de genes implicados em iniciar o câncer e os mecanismos pelos quais a disfunção destes genes pode resultar na doença. Descreveremos várias síndromes de câncer herdado e demonstraremos como o conhecimento de sua patogenia iluminou a base do câncer em geral. Também descreveremos alguns dos desafios especiais que tais síndromes apresentam para a genética médica e a consulta genética.

BIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer não é uma doença única, mas sim um nome usado para descrever as formas mais virulentas de **neoplasia**, um processo de doença caracterizado por uma proliferação celular descontrolada, que leva a uma massa ou tumor (**neoplasma**). Para um neoplasma ser um câncer, entretanto, ele tem que adicionalmente ser **maligno**, o que significa que seu crescimento não é mais controlado e o tumor é capaz de invadir os tecidos vizinhos ou se espalhar (**disseminar-se por metástase**) para sítios mais distantes, ou ambos. (Os tumores que não fazem metástase não são cancerosos, mas são chamados de tumores **benignos**, embora seu tamanho e localização possam torná-los tudo, menos benignos, para o paciente.) Existem três formas principais de câncer: os **sarcomas**, nos quais o tumor surgiu em tecido mesenquimal, tal como osso, músculo ou tecido conjuntivo; os **carcinomas**, que se originam no tecido epitelial, tal como as células que revestem o intestino, os brônquios ou os dutos mamários; e as malignidades **hematopoéticas** e **linfóides**, tais como as leucemias e os linfomas, que se espalham pela medula óssea, pelo sistema linfático e pelo sangue periférico. Dentro de cada um dos grupos principais, os tumores são classificados de acordo com o local, o tipo de tecido, o aspecto histológico e o grau de malignidade.

A neoplasia, um acúmulo anormal de células, ocorre em decorrência de um desequilíbrio entre a proliferação celular e o atrito celular. As células proliferam à medida que passam pelo ciclo celular e sofrem mitose, enquanto o atrito, devido à morte celu-

A Base Genética do Câncer

1. Independente do câncer ocorrer esporadicamente em uma pessoa ou repetidas vezes em muitas pessoas de uma família como uma característica hereditária, o câncer é uma doença genética.
2. Diferentes tipos de genes foram implicados em iniciar o processo do câncer. Eles incluem genes codificantes de:
 - * proteínas das vias de sinalização para a proliferação celular;
 - * componentes do citoesqueleto envolvidos na manutenção da inibição por contato;
 - * reguladores do ciclo mitótico;
 - * componentes da maquinaria de morte celular programada;
 - * proteínas responsáveis pela detecção e pelo reparo de mutações.
3. Diferentes tipos de mutações são responsáveis por causar o câncer. Isto inclui:
 - * mutações ativadoras de ganho de função de um alelo de um **proto-oncogene**;
 - * perda de função de ambos os alelos ou mutação negativa dominante de um alelo de um **gene supressor tumoral**;
 - * **translocações cromossômicas** que causam má expressão de genes ou criam genes quiméricos que codificam proteínas que ganharam novas propriedades funcionais.
4. Uma vez iniciado, o câncer evolui pelo acúmulo de danos genéticos adicionais por meio de mutações ou silenciamento epigenético dos genes que codificam a maquinaria celular que repara o DNA danificado e mantém a normalidade citogenética.

lar programada, remove as células de um tecido por meio de um processo normal de fragmentação do DNA e suicídio celular chamado de **apoptose** (Fig. 16.1).

BASE GENÉTICA DO CÂNCER

Os processos de divisão e morte celular são regulados por uma grande gama de genes. Amplas pesquisas realizadas durante as últimas

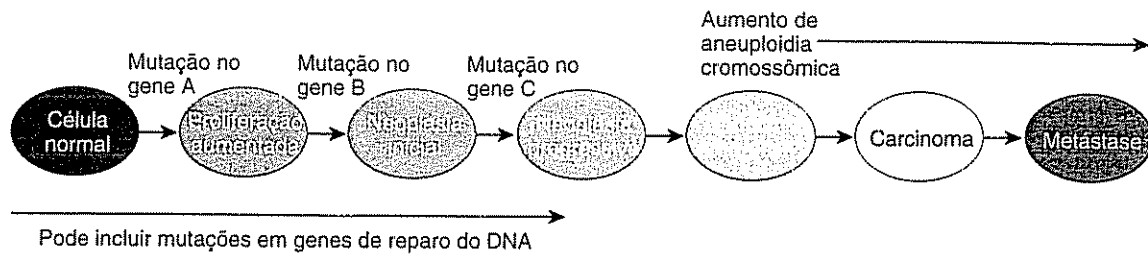


Fig. 16.1 Estágios da evolução do câncer. Os graus crescentes de anomalia estão associados à perda seqüencial de genes supressores tumorais de vários cromossomos e à ativação de proto-oncogenes, com ou sem um defeito concomitante no reparo do DNA. Por exemplo, o câncer esporádico com defeitos de reparo no DNA é menos comum que os cânceres sem reparo anormal, mas, quando presente, pode se desenvolver juntamente com uma via diferente, mas paralela, levando ao ponto final comum da malignidade.

décadas revelaram que as *mutações nos genes que controlam a proliferação e a morte são responsáveis pelo câncer*. Na maioria dos cânceres, as mutações ocorrem em uma única célula somática, que então se divide e continua se desenvolvendo no câncer. Mais raramente, quando o câncer ocorre como parte de uma síndrome de câncer hereditário, as mutações iniciais causadoras de câncer são herdadas por meio da linhagem germinativa e, portanto, já estão presentes em cada célula do corpo. Por ambos os mecanismos, uma vez iniciado, o câncer evolui pelo acúmulo adicional de danos genéticos por meio de mutações nos genes que codificam a maquinaria celular que repara o DNA danificado e mantém a normalidade citogenética. Os danos a estes genes produzem uma cascata pior de mutações em um número crescente de genes que controlam a proliferação celular e o reparo aos danos no DNA. Deste modo, o clone original de células neoplásicas pode evoluir em várias sublinhagens de graus variados de malignidade, cada uma carregando um conjunto de mutações que são diferentes das mutações de outras sublinhagens, mas a elas se superpõem. A Fig. 16.1 ilustra um paradigma geral que, embora mais bem elucidado no caso do câncer de cólon (ver mais adiante neste capítulo), provavelmente se aplica a muitos dos cânceres, se não a maioria. É um modelo conceitual útil que fornece uma estrutura para considerar o papel das mudanças genéticas no câncer, como destacaremos ao longo deste capítulo.

É útil separar os genes envolvidos no câncer em duas categorias distintas: os **oncogenes** e os **genes supressores tumorais** (Fig.

16.2). Os oncogenes são mais comumente alelos mutantes (“ativados”) de uma classe de genes celulares normais conhecidos como **proto-oncogenes**, mas também podem ser genes tais como os que codificam telomerase ou genes bloqueadores de apoptose (ver adiante). Os oncogenes em geral se devem a mutações de *ganho de função* (ver Cap. 11) que facilitam a transformação maligna por mecanismos tais como o estímulo da proliferação, o aumento de suprimento de sangue para o tumor e a inibição da apoptose. Os genes supressores tumorais, como o nome indica, bloqueiam o desenvolvimento de um tumor regulando o crescimento celular. A *perda de função* das proteínas codificadas pelos genes supressores tumorais leva a uma divisão celular descontrolada e ao crescimento celular anormal ou apoptose deficiente.

As mutações ocorrem continuamente durante a divisão celular (ver Cap. 6), e os oncogenes e os genes supressores tumorais em geral não são inerentemente mais mutáveis que os outros genes. O que torna as mutações no câncer diferentes de outras mutações é a forte seleção positiva para a proliferação celular ou sobrevivência causada pelas mutações. É exatamente o fenótipo de uma célula cancerosa, sua proliferação descontrolada e excessiva, que permite que uma célula mutante se desenvolva em uma doença que ameaça a vida. Em contraste, as mutações que fazem com que uma célula dentre muitas perca a função ou morra não têm efeitos fenotípicos porque a perda da célula é mascarada pela grande maioria de células saudáveis em um órgão ou tecido.

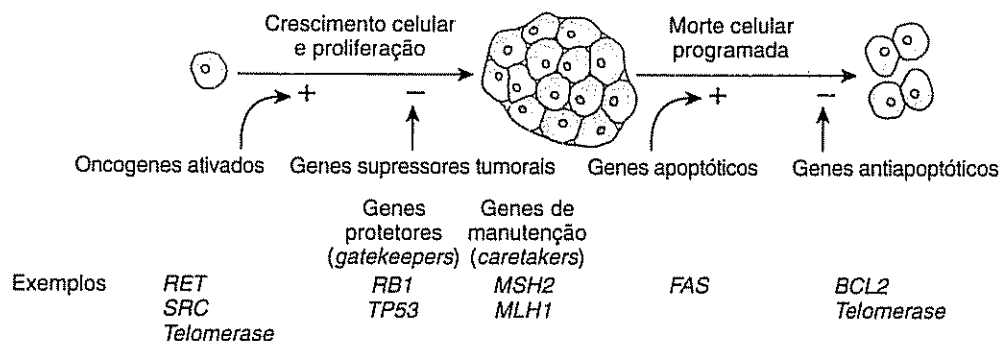


Fig. 16.2 Esquema geral para mecanismos de oncogênese pela ativação de proto-oncogene, mutação ou perda de genes supressores tumorais, ativação de genes antiapoptóticos ou perda de genes pró-apoptóticos. O efeito dos genes que acentuam um processo é mostrado como +, enquanto o efeito dos genes que suprimem um processo é mostrado como -. A divisão celular e a proliferação são estimuladas (+) pelos produtos dos proto-oncogenes. Alguns genes supressores tumorais regulam diretamente a função dos proto-oncogenes (genes protetores — *gatekeepers*). Outros atuam mais indiretamente, mantendo a integridade e corrigindo as mutações durante a replicação do DNA e a divisão celular (genes de manutenção — *caretakers*). A ativação de um gene antiapoptótico permite um acúmulo excessivo de células, enquanto a perda da função de genes apoptóticos tem o mesmo efeito. A ativação dos oncogenes ou genes antiapoptóticos é dominante e requer apenas um único alelo mutante. A ação dos genes supressores tumorais é recessiva. Quando ambos os alelos são mutados ou perdidos, o crescimento celular é desregulado ou a integridade genômica é comprometida. A perda de genes pró-apoptóticos pode ocorrer pela perda de ambos os alelos ou por uma mutação dominante negativa em um alelo.

Câncer nas Famílias

Muitas formas de câncer têm uma incidência mais alta em parentes de pacientes que na população em geral. Mais proeminente entre estas formas familiares de câncer são os quase 50 distúrbios mendelianos nos quais o risco de câncer é muito alto (Quadro 16.1), o que indica que algumas mutações de câncer em um único gene podem ser fatores que contribuem de modo predominante para a causa da doença. Extensos estudos epidemiológicos mostraram, entretanto, que algumas famílias têm um risco acima da média de câncer, mesmo na ausência de um padrão mendeliano óbvio. Por exemplo, uma incidência aumentada de câncer, na faixa de duas a três vezes, foi observada em parentes de primeiro grau de probandos, o que sugere que muitos cânceres são características complexas que resultam tanto de fatores genéticos quanto ambientais (ver Cap. 15). Assim, uma história familiar de câncer em um parente de primeiro ou segundo grau de um paciente deve fazer com que o médico suspeite de aumento do risco de câncer no paciente.

Embora as pessoas com uma forte predisposição hereditária ao câncer provavelmente representem menos de 5% de todos os pacientes com câncer, a identificação de uma base genética para sua doença tem grande importância tanto para o tratamento clínico destas famílias quanto para a compreensão do câncer em geral. Primeiro, os parentes das pessoas com fortes predisposições, que com mais frequência se devem a mutações em um único gene, podem receber a oferta de testes e consulta genética, para a tranquilidade apropriada ou o monitoramento mais intenso e a terapia, dependendo dos resultados dos testes. Segundo, como é o caso em muitas doenças comuns, a compreensão das formas hereditárias da doença nos dá informações cruciais sobre os mecanismos da doença que vão além das próprias formas hereditárias. Se é preciso uma série de mutações para que uma malignidade se desenvolva (ver a Fig. 16.1), se esperaria que uma mutação herdada em qualquer um dos genes críticos tivesse um forte impacto na predisposição dos portadores ao câncer, podendo contribuir para uma parte substancial de todos os cânceres. Os portadores de tais genes poderiam contribuir para uma vasta maioria de cânceres que não são reconhecidos como "familiares".

ONCOGENES

Um **oncogene** é um gene mutante cujo funcionamento ou expressão alterada resulta em uma estimulação anormal da divisão celular e proliferação. As mutações ativadoras podem ser no próprio oncogene, em seus elementos reguladores ou mesmo em seu número de cópias genômicas, levando a um funcionamento desregulado ou hiperexpressão do produto oncogênico. Os oncogenes têm um efeito dominante no nível celular. Isto é, quando ativado ou hiperexpresso, um único alelo mutante é suficiente para mudar o fenótipo de uma célula de normal para maligno.

Síndromes Hereditárias Devidas a Oncogenes Ativados

ADENOMATOSE ENDÓCRINA MÚLTIPLA, TIPO 2

A adenomatose endócrina múltipla, tipo 2 (MEN2), em seu tipo mais comum de variante A, é um distúrbio autossômico dominante caracterizado por uma alta incidência de carcinoma medular da tireóide (um tumor produtor de tirocalcitonina de células parafoliculares da tireóide) que em geral, mas nem sempre, está associado ao feocromocitoma ou aos adenomas paratireoideais benignos,

ou ambos. A variante mais rara tipo B, chamada de MEN2B, apresenta, além dos tumores vistos nos pacientes com MEN2A, um espessamento dos nervos e o desenvolvimento de tumores neurais benignos, conhecidos como **neuromas**, na superfície da mucosa da boca e dos lábios. As mutações responsáveis por MEN2 são no gene *RET*, que codifica um receptor de tirosina cinase que serve como receptor para dois ligandos, o fator de crescimento derivado da linhagem celular glial (*gdnf*) e neurturina, e é o mesmo gene implicado na doença de Hirschsprung (ver Cap. 15). Os receptores de tirosina cinase transduzem um sinal externo, tal como a associação do ligando do receptor, sofrendo uma mudança conformacional, tal como uma dimerização. A mudança conformacional no receptor ativa uma atividade intrínseca de cinase que fosforila outras proteínas celulares, iniciando assim uma cascata de mudanças nas interações proteína-proteína e DNA-proteína, bem como na atividade enzimática de muitas proteínas. Em oposição às mutações de *perda de função* em *RET* encontradas na doença de Hirschsprung, as mutações *RET* em MEN2A e MEN2B são mutações de ponto específicas, que *ativam* o receptor e fazem com que ele fosforile tirosinas mesmo na ausência de ligação de *gdnf* ou neurturina. As pessoas que herdaram uma mutação ativadora em *RET* têm uma chance de aproximadamente 60% de desenvolver carcinoma medular sintomático da tireóide, embora testes mais sensíveis, tais como os testes sanguíneos para tirocalcitonina ou catecolaminas urinárias sintetizadas por feocromocitomas, sejam anormais em mais de 90% dos heterozigotos para MEN2.

CARCINOMA RENAL PAPILAR HEREDITÁRIO

Compreendendo cerca de 15% de todos os neoplasmas de célula renal, os carcinomas renais papilares contêm hastes vascularizadas de tecido conjuntivo circundando as células neoplásicas. Em algumas famílias, o carcinoma renal papilar é herdado como uma característica autossômica dominante decorrente de uma mutação no gene para *MET*, outro receptor de tirosina cinase. Como em *RET* na MEN2, as mutações em *MET* no carcinoma renal papilar hereditário (HPRC) são mutações ativadoras que fazem com que o receptor funcione como uma tirosina cinase ativa, mesmo na ausência de seu ligando normal, o fator de crescimento do hepatócito.

CLONALIDADE E ESPECIFICIDADE TISSULAR DA ADENOMATOSE ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 2 E DO CARCINOMA RENAL PAPILAR HEREDITÁRIO

Embora saibamos a partir da natureza hereditária do carcinoma medular da tireóide e do HPRC que as mutações em *RET* ou *MET* são a causa subjacente dos cânceres, nem todas as células parafoliculares da tireóide ou células papilares renais tornam-se de fato cancerosas, o que indica que os próprios oncogenes não são suficientes para causar a doença. Outras mutações genômicas e cromossômicas ocorrem, tais como a perda de uma parte do cromossomo 1p nos carcinomas medulares tireoideanos na MEN2A e a trissomia do 7 devida à duplicação do cromossomo 7 portador de oncogene *MET* ativado em tecido de carcinoma renal no HPRC. Estes eventos secundários surgem em múltiplos sítios nas células individuais, cada um dos quais então se divide e se desenvolve em um tumor que se origina de uma única célula e é, portanto, dito como sendo **clonal**.

Tanto *RET* quanto *MET* são expressos em muitos tecidos do corpo e são necessários, no caso de *RET*, para um desenvolvimento embrionário normal dos gânglios autônomos e dos rins e, no caso de *MET*, para o desenvolvimento normal do fígado, dos músculos e da placenta. Ainda é totalmente desconhecido por que

QUADRO 16-1

Síndromes de Câncer Familiar com Herança Mendeliana

Herança Autossômica Dominante — Oncogene Ativado					
<i>Síndrome</i>	<i>Tumor Primário</i>	<i>Cânceres Associados e Outras Características</i>	<i>Gene</i>	<i>Localização Cromossômica</i>	<i>Função Proposta do Produto Gênico</i>
Neoplasia endócrina múltipla 2	Câncer medular da tireóide	Feocromocitoma tipo 2A, hiperplasia da paratireóide tipo 2B, feocromocitoma, hamartomas de mucosa	<i>RET</i>	10q11.2	Receptor transmembranar de tirosina cinase para fator neurotrófico derivado de linhagem celular glial
Carcinoma renal papilar hereditário	Câncer de célula renal		<i>MET</i>	7q31	Receptor transmembranar de fator de crescimento de hepatócito
Herança Autossômica Dominante — Perda de Gene Supressor Tumoral					
Retinoblastoma familiar	Retinoblastoma	Osteossarcoma	<i>RBI</i>	13q14.3	Ciclo celular e regulador transcricional
WAGR	Tumor de Wilms	Síndrome de genes contíguos incluindo genitália ambígua e retardo mental	<i>WT1</i>	11p13	Repressor de transcrição
Von Hippel-Lindau	Câncer renal (célula clara)	Feocromocitomas, angiomas retinais, hemangioblastomas	<i>VHL</i>	3p25	Regulador de transcrição de RNA
Carcinoma nevóide de célula basal	Câncer de célula basal da pele	Cistos mandibulares, depressões palmares e plantares, meduloblastoma, fibromas ovarianos	<i>PTCH</i>	9q22.3	Receptor transmembranar de sinalização pela molécula <i>hedgehog</i>
Doença de Cowden	Câncer de mama, câncer de tireóide (folicular)	Pólipos intestinais	<i>PTEN</i>	10q23.3	Fosfatase de proteínas e lipídios
Peutz-Jeghers	Câncer gastrointestinal	Câncer testicular, ovariano	<i>STK11</i>	19p13.3	Cinase proteica de serina/treonina
Melanoma familiar	Melanoma	Câncer pancreático, nevi displásicos, molas atípicas	<i>CDKN2</i>	9p21	Inibidor de CDK4 e CDK6, cinases que promovem a transição de G ₁ para a fase S do ciclo celular
			<i>CDK4</i>	12q14	Cinase proteica que sinaliza divisão celular
Neurofibromatose, tipo 1	Neurofibromas	Neurofibrossarcomas, tumores cerebrais	<i>NF1</i>	17q11.2	Regulação de proteínas G tipo <i>RAS</i>
Neurofibromatose, tipo 2	Neuromas acústicos, meningiomas	Gliomas, ependimomas, mesotelioma	<i>NF2</i>	22q12.2	Ligação entre proteínas da membrana e citoesqueleto celular
Polipose adenomatosa familiar	Câncer colorretal	Tumores duodenais e gástricos, anomalias de retina, osteomas de mandíbula e tumores desmóideos, meduloblastoma, glioblastoma (síndrome de Turcot)	<i>APC</i>	5q21-q22	Regulação de β -catenina, um componente do citoesqueleto celular
Câncer gástrico familiar	Câncer gástrico		<i>CDH1</i>	16q22	E-caderina, envolvida na adesão celular

continua

QUADRO 16-1 (Continuação)

Síndromes de Câncer Familiar com Herança Mendeliana					
Herança Autossômica Dominante — Perda de Gene Supressor Tumoral (continuação)					
Síndrome	Tumor Primário	Cânceres Associados e Outras Características	Gene	Localização Cromossômica	Função Proposta do Produto Gênico
Neoplasia endócrina múltipla, tipo 1	Ilhota pancreática	Hiperplasia da paratireóide, adenomas hipofisários	<i>MEN1</i>	11q13	Desconhecida
Herança Autossômica Dominante — Perda de Genes de Reparo do DNA					
Li-Fraumeni	Sarcomas, câncer de mama	Tumores cerebrais, leucemias	<i>TP53</i>	17p13.1	Fator p53 de transcrição que responde a danos no DNA para induzir apoptose
Câncer de mama familiar, tipo 1	Câncer de mama	Câncer ovariano	<i>BRCA1</i>	17q21	Reparo de quebras bifilamentares no DNA?
Câncer de mama familiar, tipo 2	Câncer de mama	Câncer pancreático, câncer de mama em homens	<i>BRCA2</i>	13q12	Reparo de quebras bifilamentares do DNA?
Câncer hereditário colorretal não-polipose	Câncer colorretal	Câncer endometrial, ovariano, hepatobiliar e de bexiga, glioblastoma (síndrome de Turcot)	<i>MSH2</i> <i>MLH1</i> <i>PMSL1</i> <i>PMSL2</i> <i>MSH6</i>	2p22-p21 3p21 2q31.1 7p22 2p16	Reparo de mau pareamento de bases do DNA. Mantém a estabilidade de repetições simples em tandem do DNA
Herança Autossômica Dominante — Interferência na Apoptose					
Síndrome linfoproliferativa auto-imune	Linfomas de Hodgkin e não-Hodgkin	Intensa linfadenopatia e esplenomegalia, anemia hemolítica e trombocitopenia	<i>TNFRSF6 (FAS)</i> <i>TNFSF6 (FASL)</i>	10q24.1 1q23	Receptor que transduz sinal apoptótico de ligando fas Ligando fas
Herança Autossômica Recessiva — Integridade Anormal do Genoma					
Ataxia telangiectasia	Linfoma	Degeneração cerebelar, esterilidade	<i>ATM</i>	11q22-q23	Reparo do DNA
Bloom	Tumores sólidos	Imunodeficiência, baixa estatura, anomalias pigmentares, sensibilidade ao sol, infertilidade, instabilidade cromossômica	<i>BLM</i>	15q26.1	DNA helicase?
Xeroderma pigmentoso (total de sete grupos complementares, designados de A a G. Todos os 7 genes foram clonados)	Câncer de pele	Sensibilidade ao sol, hipogonadismo, retardo mental ocasional e neurodegeneração	<i>XPB</i> <i>XPD</i> <i>XPA</i> <i>XPC</i> <i>XPF</i> <i>XPE</i> <i>XPG</i>	2q21 19q13 9q22.3 3p25 16q13 11p11-p12 13q33	Componentes da maquinaria de reparo de DNA envolvida na excisão e no reparo de danos de luz ultravioleta
Anemia de Fanconi (total de 8 grupos de complementação, A-H)	Leucemia	Pancitopenia, hipoplasia do osso radial/polegar, instabilidade cromossômica, ocasionais anomalias cardíacas e renais	<i>FANCA</i> <i>FANCC</i> <i>FANCD</i> <i>FANCE</i>	16q24.3 9q22.3 3p25.3 11p15	Componentes da maquinaria de reparo do DNA

as mutações ativadoras na linhagem germinativa nestes dois proto-oncogenes resultam em cânceres particulares de tipo histológico distinto restrito a tecidos específicos, pois outros tecidos nos quais o oncogene é expresso não desenvolvem tumores. Talvez nestes tecidos nos quais o oncogene é expresso a ativação de *RET* ou *MET* não confira uma vantagem de crescimento.

Ativação de Oncogenes no Câncer Esporádico

Muito antes da descoberta das síndromes de câncer hereditário decorrentes de herança autossômica dominante de proto-oncogenes ativados, muitos oncogenes mutados, incluindo *RET*

e *MET*, tinham sido identificados em cânceres esporádicos. Estes oncogenes foram descobertos usando-se um poderoso teste conhecido como **transformação mediada por DNA** (Fig. 16.3). O DNA humano, extraído e purificado de linhagens celulares de câncer esporádico, foi introduzido em uma linhagem celular de camundongo não-tumorigênica em cultura, para gerar colônias de células que foram **transformadas**, isto é, que tinham adquirido propriedades tumorigênicas. O DNA contendo uma parte do DNA tumorigênico, incluindo o oncogene responsável, foi isolado de uma colônia de células de camundongo transformadas, transferido novamente para as células de camundongo não-

tumorigênicas e as colônias transformadas foram identificadas. Este processo foi repetido até que, eventualmente, o único DNA humano presente nas células transformadas era o pequeno segmento contendo o oncogene humano ativado derivado inicialmente da linhagem celular de câncer humano. Usando a repetição *Alu* específica de humanos (ver Cap. 3) como sonda de hibridização, os cientistas puderam identificar e clonar o DNA genômico humano codificante do oncogene transformante de uma biblioteca feita a partir da célula transformada de camundongo (ver Cap. 4).

Um dos primeiros oncogenes ativados descobertos pelo teste de transformação foi um gene *RAS* mutante derivado de uma linhagem celular de carcinoma de bexiga. *RAS* codifica uma de uma grande família de proteínas de ligação de guanosina trifosfato (GTP) (as **proteínas G**). As proteínas G servem como interruptores moleculares "liga-desliga" que ativam ou inibem as moléculas seguintes quando ligadas a GTP, mas terminam seu efeito quando o GTP ligado é clivado em guanosina difosfato (GDP) por uma atividade enzimática GTPase intrínseca. O oncogene ativado e sua contraparte normal proto-oncogene diferem em apenas um único par de bases. A alteração, uma mutação de ponto em uma célula somática do tumor, leva à síntese de uma proteína ras anormal que é capaz de sinalizar continuamente, mesmo na ausência de GTP ligado, para estimular o crescimento da linhagem celular, transformando-a, assim, em um tumor. As mutações de ponto *RAS* são observadas em muitos tumores, e os genes *RAS* foram demonstrados experimentalmente como sendo o alvo mutacional de carcinógenos conhecidos, um achado que apóia um papel dos genes mutados *RAS* no desenvolvimento de muitos cânceres.

Hoje em dia, mais de 50 oncogenes humanos (e, portanto, seus proto-oncogenes normais) já foram identificados com base nos estudos de transformação de DNA com DNA genômico de tumores humanos. Os exemplos de alguns destes oncogenes são dados no Quadro 16.1 Os vários papéis das muitas classes de proto-oncogenes na regulação do crescimento são ilustrados na Fig. 16.4.

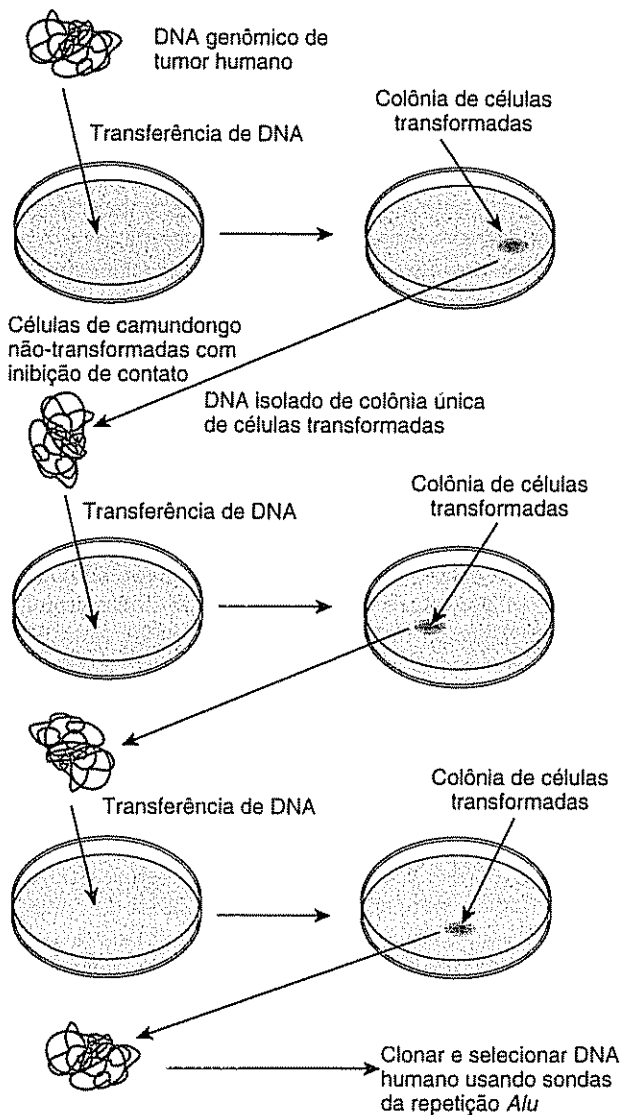


Fig. 16.3 Triagem de transformação mediada por DNA. O DNA de alto peso molecular de uma linhagem celular tumoral é aplicado a uma camada de células de camundongo não-transformadas e as células são induzidas a captar o DNA. Aparecem algumas colônias de células transformadas. Uma única colônia é isolada, seu DNA é isolado, e o processo de aplicação do DNA às células de camundongo não-transformadas é repetido. Após alguns ciclos, o único DNA humano dentro de uma célula transformada será o DNA contendo um oncogene ativado presente na linhagem celular tumoral original. As seqüências de repetição específicas de humanos (tais como *Alu*) podem ser usadas para identificar e clonar as seqüências de DNA humano contendo o oncogene ativado de uma biblioteca genômica feita de DNA das células transformadas de camundongo

ATIVAÇÃO DE ONCOGENES POR TRANSLOCAÇÃO CROMOSSÔMICA

A mutação gênica é apenas um dos vários mecanismos que podem induzir a ativação de proto-oncogenes (Quadro 16.2) Em alguns casos, um proto-oncogene é ativado por uma mutação cromossômica, em geral por translocação (Quadro 16.3) Mais de 40 translocações cromossômicas oncogênicas foram descritas, principalmente em leucemias esporádicas e linfomas, mas também em alguns raros sarcomas de tecido conjuntivo. Em alguns casos, os pontos de quebra das translocações são dentro dos íntrons de dois genes, produzindo, assim, uma proteína quimérica com propriedades novas (ganho de função), que são oncogênicas. O exemplo mais bem conhecido é a translocação entre os cromossomos 9 e 22 que é vista na leucemia mielóide crônica (CML). Em outros, a translocação ativa um oncogene colocando-o em seguida a um forte promotor constitutivo que pertence a outro gene. Dois exemplos bem conhecidos são a translocação entre os cromossomos 8 e 14, no linfoma de Burkitt, e a translocação envolvendo o cromossomo 18, no linfoma de células B.

Leucemia Mielóide Crônica. Na CML, a anomalia citogenética vista, o chamado cromossomo Philadelphia (Ph^1), é o produto de uma translocação entre os cromossomos 9 e 22 (Fig. 16.5). A translocação move o proto-oncogene *ABL*, uma tirosina cinase, de sua posição normal no cromossomo 9q para a

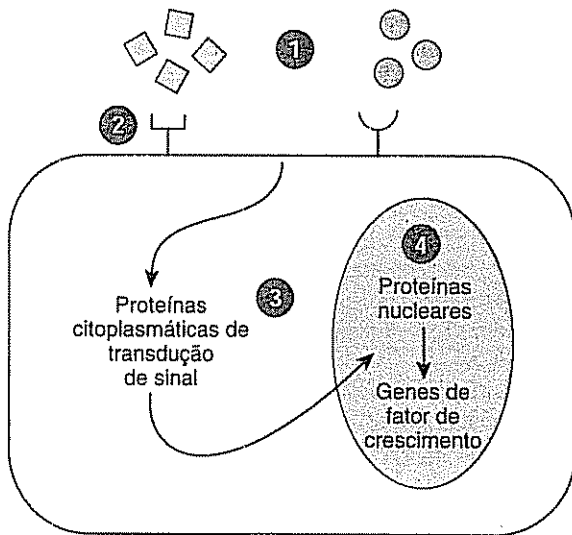


Fig. 16.4 Transdução de sinais e regulação do crescimento pelos produtos dos proto-oncogenes, classificados por sua localização e funcionamento na célula. A desregulação de um proto-oncogene pode levar a uma transformação maligna. 1. Fatores de crescimento secretados, tais como o fator de crescimento embrionário (EGF) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). 2. Receptores específicos para fatores de crescimento secretados, tais como *RET*. 3. Proteínas citoplasmáticas de transdução de sinal, tais como a proteína G codificada por *RAS* e a cinase proteica codificada por *ABL*. 4. Proteínas nucleares, tais como o fator de transcrição codificado por *MYC* que se liga ao DNA e modifica a transcrição.

“região do ponto de quebra” do gene (*BCR*), um gene de função desconhecida no cromossomo 22q. A justaposição das seqüências *BCR* e das seqüências *ABL* permite a síntese de uma proteína quimérica que é maior que a proteína *abl* normal e tem um aumento de atividade de tirosina cinase. Embora a função das proteínas *abl* e *bcr* normais ainda não esteja clara, o aumento de atividade de tirosina cinase da nova proteína codificada pelo gene quimérico é o evento primário causador da leucemia crônica.

Linfoma de Burkitt. O linfoma de Burkitt é um tumor de células B da mandíbula que tem uma distribuição geográfica incomum: é o tumor mais comum em crianças da África equatorial, mas é raro em outras partes. Na maioria dos tumores deste tipo, o proto-oncogene *MYC* é translocado de sua posição cromossômica normal em 8q24 para uma posição distal ao locus de cadeia pesada de imunoglobulina em 14q32. Citogeneticamente, isto é visto como uma aparente translocação balanceada 8;14. A translocação supostamente coloca o acentuador ou

outras seqüências ativadoras de transcrição, normalmente associadas aos genes de imunoglobulina, perto do gene *MYC*. Apoiando esta hipótese está o achado de que outras translocações observadas em uma menor proporção dos casos de linfoma de Burkitt envolvem a translocação dos genes de cadeia leve de imunoglobulina nos cromossomos 22 ou 2 perto do gene *MYC* (ver Quadro 16.3). Em ambos os casos, estas translocações têm claramente um efeito importante no gene *MYC*, permitindo sua expressão desregulada e resultando em um crescimento celular descontrolado. A função da proteína *myc* ainda não é totalmente conhecida, mas parece ser um fator de transcrição com poderosos efeitos na expressão de vários genes envolvidos na proliferação celular, bem como na expressão da telomerase (ver discussão mais adiante).

Linfoma de Célula B Folicular. A apoptose, ou morte celular programada, é um processo normal, no qual as células são induzidas a sofrer uma forma estereotipada de suicídio caracterizada por fragmentação de DNA celular e ativação de uma família de proteases de cisteína, conhecidas como caspases, dentro das células. A apoptose tem um papel crucial no desenvolvimento normal. É particularmente proeminente no desenvolvimento do sistema imune, no qual a grande maioria dos linfócitos em desenvolvimento deve ser destruída para se proteger contra células que poderiam reagir a antígenos da própria pessoa. A hiperexpressão de uma proteína antiapoptótica nas linhagens de linfócitos pode resultar em uma grande expansão das populações de linfócitos, contribuindo, assim, para a patogênica do linfoma.

O primeiro gene apoptótico implicado no câncer foi identificado no linfoma esporádico de células B. Em quase todos os linfomas de células B do tipo folicular, um gene, o *BCL2*, situado em 18q21, foi encontrado ativado por uma translocação cromossômica t(14;18), que coloca o gene sob um forte promotor e acentuador do gene de cadeia pesada de imunoglobulina situado em 14q32. A proteína codificada por *BCL2* é uma proteína da membrana interna mitocondrial com poderosos efeitos antiapoptóticos nas células B. A expressão prolongada e imprópria deste gene ativada pelo promotor de imunoglobulina resulta em uma intensa expansão de células B, não em função de um aumento de proliferação, mas sim pelo fato da apoptose normal destas células estar inibida.

TELOMERASES COMO ONCOGENES

Um outro tipo de oncogene que foi recentemente descoberto é o gene codificante da **telomerase**, uma transcriptase reversa responsável por aumentar os telômeros nas pontas dos cromossomos. O DNA é uma estrutura bifilamentar, com os dois filamentos correndo em sentidos inversos em relação à estrutura

QUADRO 16-2

Mecanismos de Ativação de Proto-oncogenes

Mecanismo	Tipo de Gene Ativado	Resultado
Mutação reguladora	Genes de fator de crescimento	Aumento de expressão ou secreção
Mutação estrutural	Receptores de fator de crescimento, proteínas de transdução de sinal	Permite autonomia de expressão
Translocação, inserção retroviral, amplificação gênica	Oncogenes nucleares	Hiperexpressão

De Miller D. M., Blume S., Borst M., et al (1990) Oncogenes, malignant transformation, and modern medicine. *Am J Med Sci* 300:59-69.

QUADRO 16-3

Translocações Cromossômicas Características em Malignidades Humanas Seleccionadas

Neoplasia	Translocação Cromossômica	% de casos	Proto-oncogene Afetado
Linfoma de Burkitt	t(8;14)(q24;q32)	80%	<i>MYC</i>
	t(8;22)(q24;q11)	15%	
	t(2;8)(q11;q24)	5%	
Leucemia mielóide crônica	t(9;22)(q34;q11)	90%-95%	<i>BCR-ABL</i>
Leucemia linfocítica aguda	t(9;22)(q34;q11)	10%-15%	<i>BCR-ABL</i>
Leucemia linfoblástica aguda	t(1;19)(q23;p13)		gene homeobox <i>PRL</i>
Leucemia promielocítica aguda	t(15;17)(q22;q11)		receptor de ácido retinóico
Leucemia linfocítica crônica	t(11;14)(q13;q32)	10%-30%	<i>BCL-1</i>
Linfoma folicular	t(14;18)(q32;q21)		<i>BCL-2</i>

Baseado em Croce C. M. (1987) Role of chromosome translocations in human neoplasia. Cell 49:155-156; Park M., van de Woude G. F. (1989) Oncogenes: Genes associated with neoplastic disease. In Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D. (eds) The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease, 6.ª ed McGraw-Hill, New York, pp 251-276; Nourse J., Mellentin J. D., Galili N. et al (1990) Chromosomal translocation t(1;19) results in synthesis of a homeobox fusion mRNA that codes for a potential chimeric transcription factor. Cell 60:535-545; Borrow J., Goddard A. D., Sheer D., Solomon E. (1990) Molecular analysis of acute promyelocytic leukemia breakpoint cluster region on chromosome 17. Science 249:1577-1580

fosfodiéster (ver Cap. 3). Assim, um dos filamentos (chamado de "filamento lagging") na forquilha de replicação deve replicar-se descontinuamente, porque a DNA polimerase só pode adicionar à ponta 3' de um filamento de DNA em crescimento. A célula faz a síntese do filamento descontínuo sintetizando fragmentos de DNA a partir da ponta 3' dos primers de RNA que são complementares ao DNA situado em 5' da forquilha. A replicação do filamento quando sua ponta 5' está no telômero, entretanto, é um problema, porque não há DNA para servir como molde para os primers de RNA além da ponta do cromossomo. Nestas condições, a cada rodada de replicação, o filamento lagging não pode se replicar até a ponta do cromossomo, e o telômero fica cada vez mais curto. A manutenção dos telômeros

durante a divisão celular é o trabalho de uma ribonucleoproteína especial, a enzima telomerase, que usa seu próprio RNA como molde para a adição de um DNA repetitivo nos telômeros. Espécies diferentes têm repetições diferentes em seus telômeros. Nos humanos, a telomerase adiciona uma repetição de DNA hexamérica, TTAGGG (Fig. 16.6).

Nas células germinativas humanas, os telômeros contêm cerca de 15 kb de repetição hexamérica telomérica. Durante o desenvolvimento, à medida que as células se diferenciam, o funcionamento da telomerase declina e os telômeros se encurtam, levando finalmente a uma perda de aproximadamente 35 pares de bases de DNA de repetição telomérica a cada divisão celular. Após centenas de divisões celulares, as pontas dos cromossomos ficarão danificadas, e os genes situados perto dos telômeros podem ser deletados. O dano ao DNA, por sua vez, faz com que as células parem de se dividir e entrem em G₀ do ciclo celular por meio da via de p53 e Rb1 (ver a próxima seção). Foi sugerido que a **senescência celular**, a incapacidade das células normais dividirem-se indefinidamente em cultura, pode ser uma manifestação da perda de função da telomerase.

Em contraste, a expressão da telomerase reaparece nas células transformadas em cultura e em muitos tumores, acentuando, assim, a capacidade das células tumorais de se proliferarem indefinidamente. Em alguns casos, o surgimento da atividade de telomerase resulta de mutações cromossômicas ou genômicas que aumentam diretamente o funcionamento do gene de telomerase. Em outros, a telomerase pode ser apenas um dos muitos genes cuja expressão é alterada por um oncogene transformante de fator de transcrição, tal como *MYC*. Em qualquer um dos casos, o reaparecimento da atividade de telomerase está sendo usado como um instrumento diagnóstico para o câncer nas células obtidas por biópsia ou aspiração com agulha de lesões cancerosas suspeitas. Ainda mais importante, o papel das telomerases em acentuar a proliferação celular sugere que a inibição da telomerase pode ser um novo alvo potencial significativo para o tratamento do câncer.

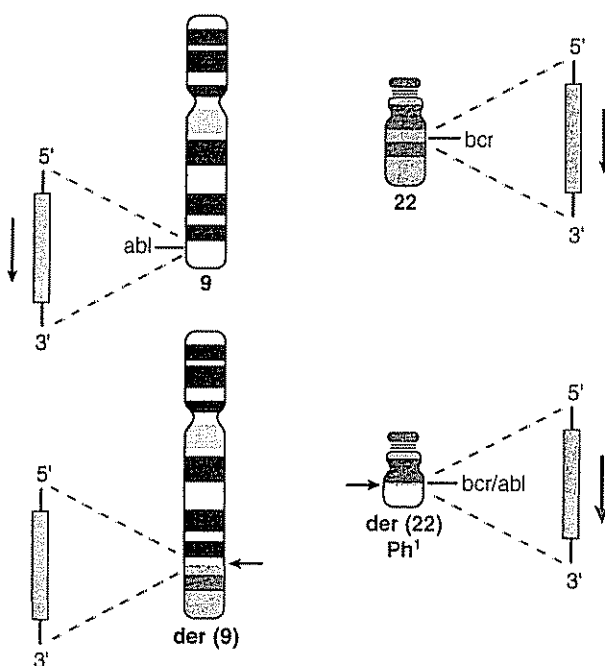


Fig. 16.5 A translocação no cromossomo Philadelphia, t(9;22)(q34;q11) O cromossomo Philadelphia (Ph¹) é o cromossomo derivativo 22, que trocou parte de seu braço longo por um segmento do cromossomo 9q que contém o oncogene *ABL*. A formação de um gene quimérico *BCR-ABL* no cromossomo Ph¹ é o evento genético crítico no desenvolvimento da leucemia mielóide crônica

GENES SUPRESSORES TUMORAIS

Enquanto as proteínas controladas por oncogenes promovem o câncer, em geral por mutações de ganho de função ou pelo aumento ou expressão imprópria de um alelo do gene, existem muitos outros genes nos quais as mutações contribuem para a malignidade por um mecanismo diferente: a perda de função de

supressores tumorais e seus produtos são por natureza protetores contra o câncer, espera-se que a compreensão deles eventualmente leve a métodos melhores de terapia anticâncer

Os Dois Eventos de Origem do Câncer

A existência de mutações gênicas supressoras tumorais que levavam ao câncer foi originalmente proposta na década 1960, quando se sugeriu que algumas formas de câncer hereditário podiam ser iniciadas quando uma célula em uma pessoa heterozigota para uma mutação na linhagem germinativa sofria uma segunda mutação somática, tornando, assim, a célula homozigota para mutações de perda de função em um gene supressor tumoral e originando um tumor. A perda de ambos os alelos de um gene supressor tumoral também tem um papel importante na patogenia de muitos cânceres comuns esporádicos, embora, neste caso, ambos os alelos sejam inativados por dois eventos somáticos que ocorrem na mesma célula. Esta **hipótese dos “dois eventos”** foi aplicada pela primeira vez para explicar de que maneira cânceres tais como o retinoblastoma podem ocorrer tanto nas formas hereditária quanto esporádica, mas tem sido amplamente aceita como um modelo importante em muitos cânceres familiares, incluindo a polipose familiar do cólon; o câncer de mama familiar; a neurofibromatose, tipo 1 (NF1); o carcinoma hereditário não-polipose do cólon e a forma rara de câncer familiar conhecida como síndrome de Li-Fraumeni. Embora em cada um destes distúrbios a herança autossômica dominante

de um gene mutado em geral seja a regra, a perda de função de ambas as cópias do gene supressor tumoral responsável é necessária para o desenvolvimento do tumor. A explicação deste aparente paradoxo é que as células heterozigotas para uma mutação ainda têm uma cópia funcional de um gene supressor tumoral, que é suficiente para produzir um fenótipo celular normal. Entretanto, uma célula na qual uma cópia já esteja alterada ou perdida pela herança de uma mutação na linhagem germinativa perderá sua capacidade de suprimir o desenvolvimento tumoral se, por acaso, perder o funcionamento do outro alelo restante. Este “segundo evento” em geral é uma mutação somática, embora a perda de função sem mutação, tal como ocorre no silenciamento transcricional, também tenha sido observada em algumas células cancerosas (ver em seguida). O segundo evento pode causar um tumor sempre que ocorrer em uma das numerosas células de um tecido. Por este motivo, os tumores iniciais nas síndromes hereditárias associadas à perda de genes supressores tumorais em geral surgem várias vezes no mesmo tecido. Em contraste, nas formas esporádicas de câncer decorrentes da perda de gene supressor tumoral, provavelmente apenas uma única célula sofre um evento tão raro quanto duas ocorrências na mesma célula. Os cânceres geralmente são monoclonais, e o tumor original surge em um único local no tecido afetado, embora possa formar metástases depois.

O modelo de dois eventos é hoje amplamente aceito como a base tanto dos cânceres hereditários como esporádicos que surgem de mutações que causam perda de função de ambas as cópi-

QUADRO 16-4

Produtos de Genes Supressores Tumorais Selecionados

Gene Supressor Tumoral	Produto Gênico e Possível Função	Distúrbios nos Quais o Gene Está Afetado	
		Familiar	Esporádico
<i>RB1</i>	p110 Regulação do ciclo celular	Retinoblastoma	Retinoblastoma, carcinomas de pequena célula do pulmão
<i>TP53</i>	p53 Regulação do ciclo celular	Síndrome de Li-Fraumeni	Câncer de pulmão, câncer de mama
<i>BRCA1, BRCA2</i>	Brca1, Brca2 Participa na resposta às quebras bifilamentares do DNA	Câncer de mama familiar	Câncer de mama, câncer ovariano
<i>NF1</i>	Neurofibromina Proteína ativadora de GTPase	Neurofibromatose, tipo 1	Desconhecido
<i>NF2</i>	Merlin Liga moléculas de superfície celular ao citoesqueleto	Neurofibromatose, tipo 2	Schwannomas esporádicos e meningiomas
<i>DCC</i>	Dcc Receptor de moléculas de orientação axonal (netrinas)	Desconhecidos	Câncer colorretal
<i>VHL</i>	Vhl Parte do complexo de alongamento transcricional	Van Hippel-Lindau	Carcinoma de célula clara renal
<i>MLH1, MSH2</i>	Mlh1, Msh2 Reparo de mau pareamento de nucleotídeos entre filamentos do DNA	Câncer hereditário não-polipose do cólon	Câncer colorretal

as de um gene supressor tumoral dentro de uma célula. Recentemente, a teoria teve de ser ampliada, quando se descobriu que um segundo evento no alelo normal nem sempre é necessariamente uma mutação. O silenciamento devido à metilação excessiva do DNA, associado a uma configuração de cromatina fechada e perda de acesso dos fatores de transcrição ao DNA (ver Caps. 3 e 10), tem sido visto como sendo um importante mecanismo molecular alternativo para a perda de função de um gene supressor tumoral. Como uma alteração no funcionamento de um gene devida à metilação é transmitida estavelmente por mitose, ela se comporta como uma mutação. Como não há mudança no próprio DNA, entretanto, ela é chamada de uma mudança **epigenética** em vez de não-genética. O silenciamento epigenético da expressão gênica é um fenômeno normal que explica fenômenos tão diversos quanto a inativação do X (ver Caps. 5 e 10), o *imprinting* genômico (ver Cap. 5) e a manutenção de um repertório especializado de expressão gênica no desenvolvimento e na manutenção da diferenciação de tecidos específicos (ver Cap. 17).

Genes Supressores Tumorais em Síndromes de Câncer Autossômicas Dominantes

RETINOBLASTOMA

O retinoblastoma, o protótipo das doenças causadas por mutação em um gene supressor tumoral, é um raro tumor maligno da retina em crianças, com uma incidência de cerca de 1 em 20.000 nascimentos (Fig. 16.7). Ao diagnóstico de um retinoblastoma em geral deve-se seguir a remoção do olho afetado, embora tumores menores, diagnosticados em estágio inicial, possam ser tratados com terapia local, de modo a preservar a visão.



Fig. 16.7 Retinoblastoma em uma menina, mostrando um reflexo branco no olho afetado quando a luz reflete diretamente da superfície do tumor (Foto por cortesia de B. L. Gallie, The Hospital for Sick Children, Toronto.)

Cerca de 40% dos casos de retinoblastoma são da forma hereditária, na qual a criança herda um alelo mutante no locus de retinoblastoma (*RBI*) pela linhagem germinativa. Uma mutação somática ou outra alteração em uma única célula da retina leva à perda de função do alelo normal restante, iniciando, assim, o desenvolvimento do tumor (Fig. 16.8). O distúrbio é herdado como uma característica dominante, pois o grande número de retinoblastos primordiais e sua rápida taxa de proliferação torna muito provável que uma mutação somática venha a ocorrer em um ou mais dos mais de 10^6 retinoblastos. Assim, os heterozigotos para o distúrbio em geral são afetados por múltiplos tumores, freqüentemente atingindo ambos os olhos. Entretanto, a penetrância do retinoblastoma, embora alta, não é completa, pois a ocorrência do segundo evento é uma questão de acaso.

Os outros 60% dos casos de retinoblastoma não são hereditários (esporádicos). Nestes casos, *ambos* os alelos *RBI* em uma única célula da retina foram inativados por mutações somáticas independentes. Como este é um evento raro, em geral há apenas um único tumor clonal (o retinoblastoma é unilateral), e a idade média de início é mais tardia que nas crianças com a forma hereditária (ver Fig. 16.8). Para a consulta genética, um outro ponto importante é que 15% dos pacientes com retinoblastoma unilateral têm o tipo hereditário, mas a chance é de que se desenvolva um tumor em apenas um dos olhos.

As crianças com retinoblastoma hereditário têm um risco muito aumentado (400 vezes) de desenvolver tumores mesenquimais, tais como sarcomas osteogênicos, fibrossarcomas e melanomas, no início da vida adulta. O risco é muito mais alto se a criança tiver recebido radioterapia.

O gene *RBI* foi mapeado no cromossomo 13, na banda 13q14. Em uma pequena porcentagem de pacientes com retinoblastoma, a mutação herdada deve-se a uma deleção citogeneticamente detectável ou translocação desta parte do cromossomo 13, um achado que foi instrumental para situar o gene *RBI* neste local. Se tais mudanças cromossômicas também perturbarem os genes adjacentes ao *RBI*, podem levar a características dismórficas, além do retinoblastoma.

O gene *RBI* expressa-se em muitos outros tecidos além da retina, embora a perda de *RBI* inicie tumores apenas na retina e, mais tarde na vida, em um pequeno número de sítios secundários (levando a um sarcoma osteogênico, fibrossarcoma e melanoma). O motivo desta especificidade tissular é desconhecido. O produto do gene *RBI*, descrito como p110 Rb1 (uma proteína com 110 quilodáltons de tamanho), também está ausente ou mutado em várias linhagens celulares derivadas de alguns outros tumores durante sua progressão (ver Quadro 16.4).

A proteína p110 Rb1 é uma fosfoproteína que é hipofosforilada e então hiperfosforilada em diferentes estágios do ciclo celular. Em seu estado hipofosforilado, ela bloqueia a progressão do ciclo celular no limite entre G₁ e S, inibindo assim a entrada na fase S, ligando-se a — e inativando — fatores de transcrição que promovem a síntese de DNA. À medida que p110 Rb1 se torna progressivamente mais fosforilada, ela libera seus parceiros de ligação à proteína, permitindo a entrada da célula na fase S. É então progressivamente desfosforilada durante o curso do ciclo celular, o que permite que ela volte a funcionar como um bloqueio à entrada na fase S do próximo ciclo celular. A perda do gene *RBI* priva as células de um importante ponto de controle mitótico e permite uma proliferação descontrolada. O gene *RBI* é um protótipo de gene supressor tumoral protetor (*gatekeeper*).

Perda de Heterozigose. Os geneticistas que estudam os polimorfismos de DNA na região próxima ao locus *RBI* fizeram uma descoberta genética incomum, mas altamente significativa,

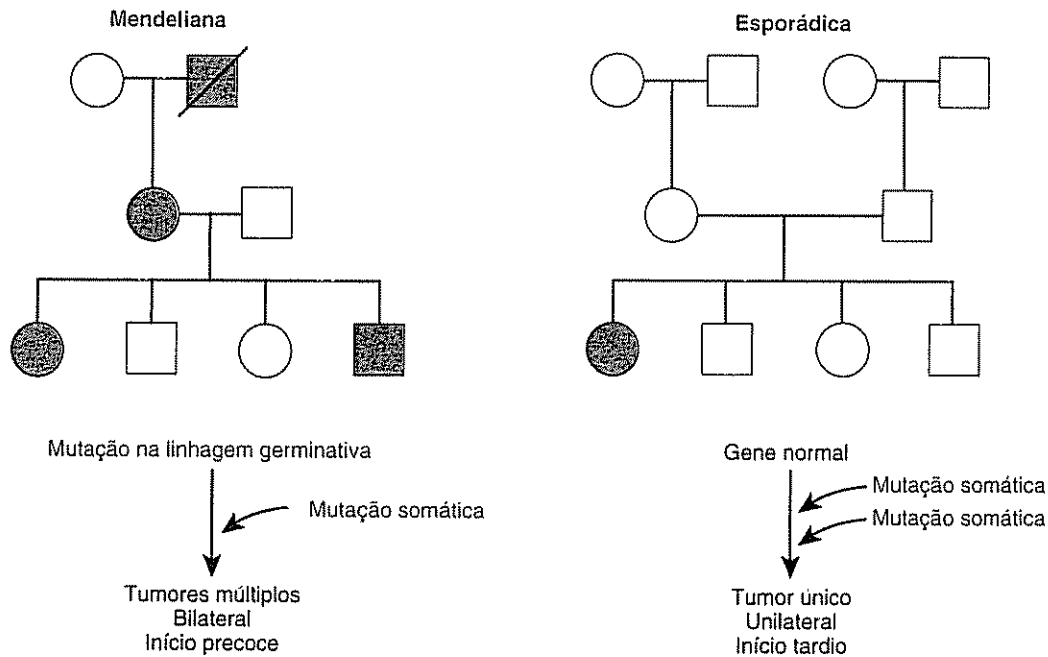


Fig. 16.8 Comparação das formas mendeliana e esporádica de cânceres tais como o retinoblastoma e a polipose familiar do cólon. Os mecanismos de mutação somática são apresentados na Fig. 16.9. Ver o texto para discussão.

quando analisaram os alelos vistos no tecido tumoral de pacientes com retinoblastoma hereditário e esporádico. As pessoas com retinoblastoma que eram heterozigotas em tecidos normais, tais como em suas células sanguíneas, tinham tumores que continham alelos de apenas um de seus dois cromossomos 13 homólogos, revelando uma **perda de heterozigose (LOH)** para partes de 13q na região do gene. Nos casos familiares, os marcadores mantidos do cromossomo 13 eram aqueles herdados do genitor afetado, isto é, o com um alelo *RBI* anormal. Assim, LOH representa o segundo evento do alelo restante. LOH pode ocorrer por deleção intersticial, mas existem outros mecanismos, tais como recombinação mitótica ou não-disjunção (Fig. 16.9). LOH é o mecanismo mutacional mais comum pelo qual o alelo restante *RBI* normal é perdido nos heterozigotos. Quando LOH não é vista, o segundo evento em geral é uma segunda mutação gênica somática ou, ocasionalmente, a inativação transcricional de um alelo não-mutado por meio de metilação. LOH é uma característica de vários outros tumores, tanto herdáveis quanto esporádicos, e geralmente é considerada uma evidência da existência de um gene supressor tumoral, mesmo quando este gene é desconhecido (Quadro 16.5).

SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

Existem “cânceres familiares” raros nos quais há uma história marcante de muitas formas diferentes de câncer (incluindo vários tipos de sarcoma ósseo e de tecidos moles, câncer de mama, tumores cerebrais, leucemia e carcinoma adrenocortical), que afetam vários membros da família em uma idade incomumente jovem, herdados de modo autossômico dominante (Fig. 16.10). Este fenótipo altamente variável é conhecido como a **síndrome de Li-Fraumeni (LFS)**. Como o gene supressor tumoral *TP53* que codifica a proteína p53 está inativado nas formas esporádicas de muitos dos cânceres encontrados na LFS, *TP53* foi considerado um candidato para o gene defeituoso na LFS. A análise do DNA de várias famílias com LFS confirmou esta hipótese. Os membros afetados de mais de 70% das famílias com LFS de

fato possuíam uma forma mutante do gene *TP53* como uma mutação de linhagem germinativa. Assim, LFS é uma forma extrema de um grupo de cânceres que ocorrem tanto na forma esporádica quanto na forma familiar. Como visto também no retinoblastoma, uma das duas mutações necessárias para inativar o gene *TP53* está presente na linhagem germinativa na LFS familiar, enquanto na forma esporádica ambas as mutações são eventos somáticos.

A proteína p53 é uma proteína de ligação ao DNA que parece ser um componente importante da resposta celular aos danos no DNA. Além de ser um fator de transcrição que ativa a transcrição de genes que param a divisão celular e permitem o reparo de danos ao DNA, a p53 parece estar envolvida na indução da apoptose nas células que sofreram danos irreparáveis no DNA. Portanto, a perda de função de p53 permite que as células com DNA danificado sobrevivam e se dividam, propagando, assim, mutações potencialmente oncogênicas.

NEUROFIBROMATOSE, TIPO 1

A **NF1** é um distúrbio autossômico dominante relativamente comum, que afeta primariamente o sistema nervoso periférico e em geral é caracterizado por grandes números de neurofibromas (ver Cap. 5). Embora estes crescimentos sejam benignos, uma minoria de pacientes com NF1 também apresenta uma incidência aumentada de malignidades, tais como neurofibrossarcoma, astrocitoma, cânceres de células de Schwann e CML infantil. O crescimento celular anormal observado na NF1 sugere que o gene normal possa funcionar na regulação da divisão celular no tecido neural.

O gene *NF1* foi mapeado no braço longo proximal do cromossomo 17 por estudos de ligação familiar e subsequentemente foi clonado pela aplicação de várias estratégias de clonagem posicional apresentadas no Cap. 8. A inspeção da sequência do gene *NF1* e seu produto proteico demonstraram uma homologia significativa a proteínas que ativam a atividade GTPase do produto oncogênico *RAS* (ver mais atrás). Este achado sugere forte-

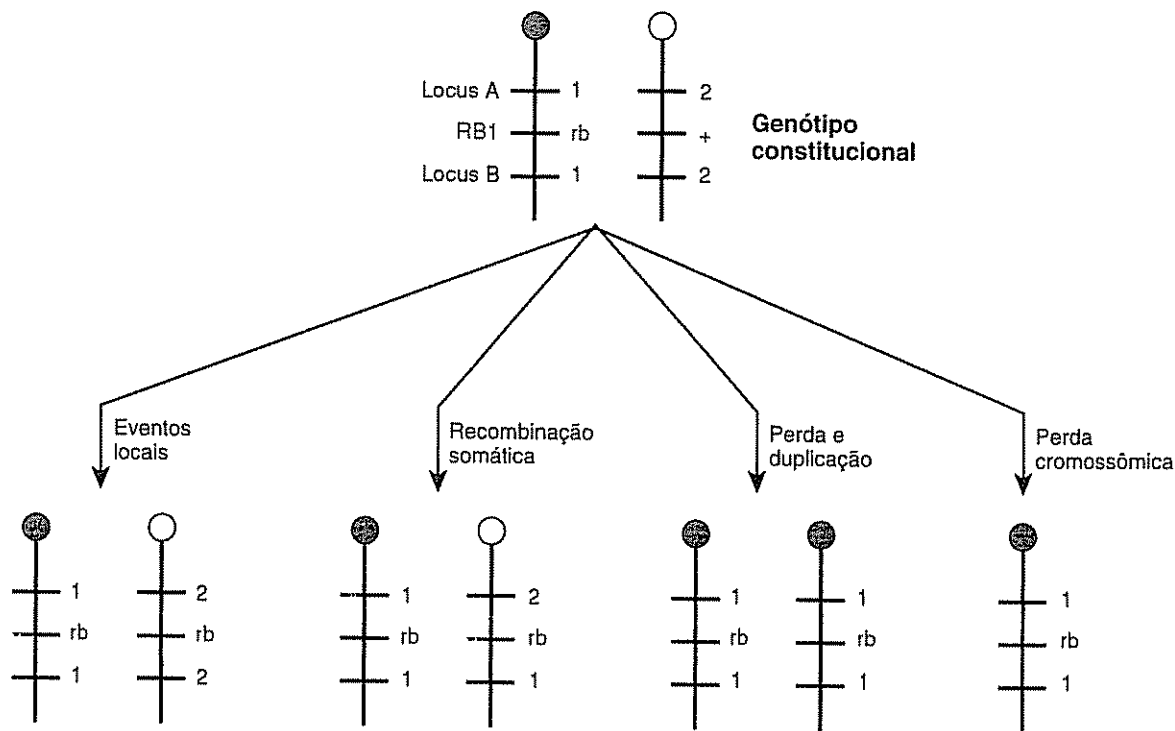


Fig. 16.9 Os mecanismos cromossômicos que podem levar a uma perda de heterozigose de marcadores de DNA no gene supressor tumoral — ou perto dele — em uma pessoa heterozigota para uma mutação herdada na linhagem germinativa, ilustrado no caso do gene do retinoblastoma no cromossomo 13q. Os eventos locais, tais como mutação, conversão gênica ou silenciamento transcricional, entretanto, podem causar perda de função de ambos os genes *RB1* sem produzir LOH. *RB1* + é o alelo normal e *rb* é o alelo mutante.

mente que o produto normal de *NF1* interage com um membro da família gênica *RAS* para regular a atividade proliferativa em células normais. O gene mutante *NF1* pode, então, falhar no que diz respeito a regular o crescimento nas células normais das quais se derivam os neurofibromas, levando a um crescimento impróprio e à formação de tumor.

Este modelo sugere que *NF1* seja um gene supressor tumoral. Por analogia com outras mutações gênicas de supressores tumorais herdados de forma dominante, seria necessária a perda ou a inativação do alelo normal restante no locus *NF1* para explicar o desenvolvimento de tumores nos pacientes com *NF1*. Em alguns casos de tumores malignos de célula de Schwann e leucemia mielóide juvenil, mas não em todos, demonstrou-se LOH do alelo normal de *NF1* nos tecidos tumorais, mas não nos tecidos vizinhos. O achado de LOH para o gene normal *NF1* em alguns destes tumores não exclui o papel de mutações múltiplas em outros genes levando a uma divisão celular desregulada (ver Fig. 16.1).

CÂNCER DE MAMA FAMILIAR DEVIDO A MUTAÇÕES EM *BRCA1* E *BRCA2*

O câncer de mama é comum. Os estudos epidemiológicos baseados em populações mostraram que até 10% de todas as mulheres nos EUA desenvolverão câncer de mama durante a vida. O câncer de mama há muito foi reconhecido como tendo um forte componente genético. O risco de uma mulher desenvolver câncer de mama é aumentado em até três vezes se um parente em primeiro grau for afetado e em até 10 vezes se mais de um parente em primeiro grau for afetado. Estes riscos familiares aumentam ainda mais se o início da doença no parente em primeiro grau afetado tiver sido aos 40 anos de idade ou menos (Fig. 16.11). Embora até 20% de todos os casos de câncer de mama possam ter um componente genético significativo como parte de um modo de herança poligênico ou multifatorial (ver Cap. 15), uma pequena proporção de casos parece se dever a uma predisposição mendeliana herdada predominantemente ao câncer de

Quadro 16-5

Exemplos de Regiões Cromossômicas que Apresentam Frequente LOH Repetida em Tumores Particulares

Região Cromossômica	Distúrbio(s)	Gene Supressor Tumoral Associado
1q	Carcinoma de mama	Desconhecido
3p	Carcinoma de pequena célula do pulmão	Desconhecido
5q	Polipose familiar do cólon; carcinoma colorretal	<i>APC</i>
13q	Retinoblastoma; carcinoma de mama; osteossarcoma	<i>RB1</i>
17p	Carcinoma colorretal; carcinoma de mama	<i>TP53</i>
18q	Carcinoma colorretal	<i>DCC</i>

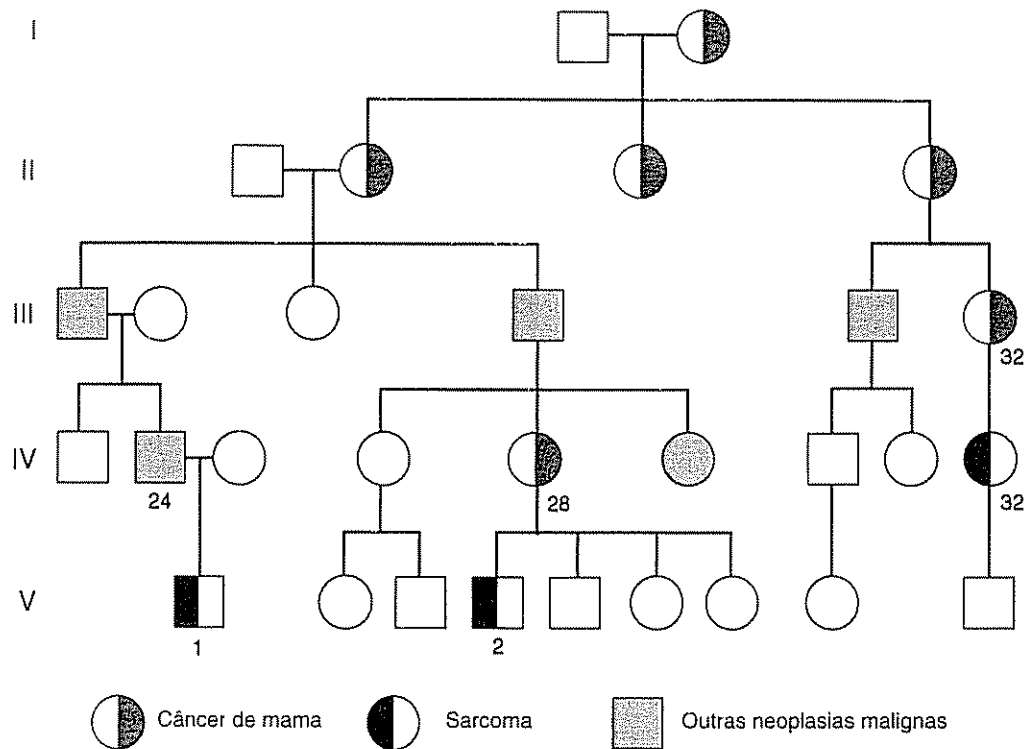


Fig. 16.10 Um heredograma da síndrome de Li-Fraumeni, no qual ocorreram câncer de mama, sarcoma e outros tumores malignos. São mostradas as idades de diagnóstico. (Redesenhado de Li F P [1988] Cancer families: Human models of susceptibility to neoplasia — the Richard and Hinda Rosenthal Foundation award lecture Cancer Res 48:5381-5386)

mama. Estas famílias compartilham características de câncer familiar (em oposição ao esporádico): várias pessoas afetadas na família, idade precoce de início e doença bilateral freqüente.

Os estudos de ligação genética nas famílias com câncer de mama familiar de início precoce levaram à descoberta de mutações em dois genes que aumentam a suscetibilidade ao câncer de mama: *BRCA1*, no cromossomo 17q21, e *BRCA2*, no cromossomo 13q12.3. Juntos, estes dois loci são responsáveis por cerca de metade e um terço do câncer de mama familiar autossômico, respectivamente, mas por menos de 5% de todos os cânceres de mama na população. Hoje, muitos alelos mutantes de ambos os genes já foram catalogados. As mutações em *BRCA1* e *BRCA2* também estão associadas a um aumento significativo no risco de câncer ovariano nas mulheres heterozigotas. As mutações em *BRCA2*, mas não em *BRCA1*, também são responsáveis por 10% a 20% de todos os casos de câncer de mama masculino, uma doença rara que afeta menos de 0,1% dos homens.

Os produtos gênicos de *BRCA1* e *BRCA2* são proteínas nucleares contidas dentro do mesmo complexo multiproteico. Este complexo foi implicado na resposta celular às quebras bifilamentares do DNA, tal como normalmente ocorre durante a recombinação homóloga ou anormal como resultado de danos ao DNA. Como se poderia esperar de qualquer gene supressor tumoral, o tecido tumoral das heterozigotas para mutações em *BRCA1* e *BRCA2* demonstram LOH com perda do alelo normal.

Penetrância das Mutações *BRCA1* e *BRCA2*. A detecção pré-sintomática de mulheres em risco de desenvolver câncer de mama como resultado de algum destes genes de suscetibilidade é um objetivo importante das pesquisas atuais, tanto em casos familiares quanto no grande número de casos esporádicos. Para fins de tratamento e consulta genética da paciente, seria extremamen-

te benéfico conhecer o risco durante a vida para o desenvolvimento de câncer de mama em pacientes portadoras de determinadas mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, comparado com o risco na população em geral (Fig. 16.12). Os estudos iniciais mostraram um risco de mais de 80% de câncer de mama aos 70 anos em mulheres heterozigotas para mutações *BRCA1* e *BRCA2*. Estas estimativas foram baseadas no risco de desenvolver câncer em parentes femininos dentro de famílias avaliadas porque o câncer de mama já havia ocorrido muitas vezes nos membros familiares. Isto é, a mutação *BRCA1* ou *BRCA2* era altamente penetrante nas portadoras. Quando estimativas similares de risco foram feitas em estudos baseados em populações, entretanto, nos quais as mulheres portadoras de *BRCA1* e *BRCA2* não foram selecionadas porque eram membros de famílias nas quais já haviam ocorrido muitos casos de câncer de mama, as estimativas de risco foram menores e variaram de 45% a 60% aos 70 anos. A discrepância entre os estudos baseados em famílias com múltiplas ocorrências da doença decorrentes da alta penetrância dos alelos mutantes e os estudos de mulheres identificadas por triagem populacional e não por história familiar sugere que outros fatores genéticos ou ambientais podem ter um papel na penetrância final das mutações *BRCA1* e *BRCA2* em mulheres heterozigotas para estas mutações.

CÂNCER DE CÓLON FAMILIAR

Polipose Familiar do Cólon. O câncer colorretal, uma malignidade do epitélio do cólon e do reto, é uma das formas mais comuns de câncer. Ele afeta mais de 150.000 pessoas por ano apenas nos EUA e é responsável por cerca de 15% de todos os cânceres. Uma pequena proporção de casos de câncer de cólon deve-se à condição autossômica dominante **polipose familiar do cólon** (também conhecida como polipose adenomatosa familiar

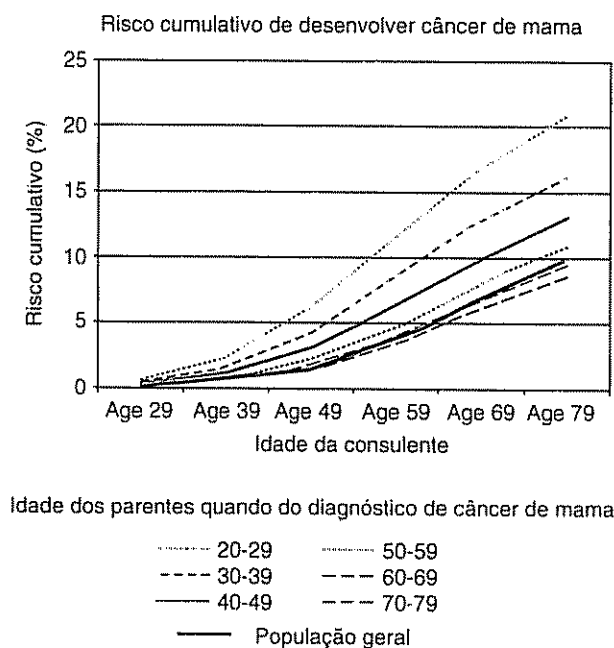


Fig. 16.11 Riscos de câncer de mama. Risco cumulativo, com a idade, de uma consulente que desenvolveu câncer de mama quando um parente em primeiro grau teve câncer de mama. O risco para a consulente aumenta diretamente com sua idade e inversamente com a idade na qual o parente em primeiro grau foi primeiro diagnosticado com câncer de mama (Adaptado de Claus E. B., Risch N., Thompson W. D. [1994] Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Implications for risk prediction. *Cancer* 73: 643-651.)

ou FAP) e sua subvariante, a síndrome de Gardner. A FAP tem uma incidência de cerca de 1 em 10.000.

Nos heterozigotos para FAP, vários pólipos adenomatosos, que em si são crescimentos benignos, desenvolvem-se no cólon durante as primeiras duas décadas de vida. Em quase todos os casos, um ou mais pólipos tornam-se malignos. A remoção cirúrgica do cólon (colectomia) impede o desenvolvimento da malignidade. Como este distúrbio é autossômico dominante, os parentes de pessoas afetadas devem ser examinados periodicamente por colonoscopia. O gene responsável, *APC*, foi isolado por clonagem posicional após o locus da doença ser mapeado no cromossomo 5q, tanto por estudos genéticos nos familiares afetados (ver Cap. 8) quanto pela demonstração de perda de heterozigose nos tumores do cólon. A síndrome de Gardner também se deve a mutações em *APC* e é, portanto, alélica à FAP. Os pacientes com síndrome de Gardner têm, além dos pólipos adenomatosos com transformação maligna vistos na FAP, outras anomalias, incluindo osteomas da mandíbula e desmóides, que são tumores que surgem nos músculos da parede abdominal.

O *APC* codifica uma proteína citoplasmática que regula a proteína bifuncional conhecida como β -catenina. A β -catenina serve tanto como ligação entre a parte citoplasmática das moléculas transmembranares de adesão celular, tais como as caderinas, e o citoesqueleto de actina quanto como ativadora da transcrição (Fig. 16.13). Sob condições normais, quando a camada epitelial colônica está íntata e a proliferação celular não é necessária, a maioria das β -cateninas está presente em um grande complexo proteico com a E-caderina. O *APC* induz a proliferação e a subsequente degradação de qualquer β -catenina não-ligada, mantendo assim os níveis de β -catenina na célula baixos. A perda de *APC* leva ao acúmulo de β -catenina citoplasmática livre, que é translocada para o núcleo e ativa a transcrição de genes de

proliferação celular, incluindo *MYC*, o mesmo gene que é hiperexpresso no linfoma de Burkitt.

Câncer Hereditário Não-polipose do Cólon. Cerca de 2% a 4% dos casos de câncer de cólon são atribuíveis a um grupo de síndromes de câncer familiar conhecido como **câncer hereditário não-polipose do cólon (HNPCC)**. O HNPCC é caracterizado por herança autossômica dominante de câncer de cólon que ocorre durante a vida adulta, mas em uma idade relativamente jovem e sem os pólipos adenomatosos vistos na FAP. Os heterozigotos masculinos para um gene mutante HNPCC têm um risco de cerca de 90% de desenvolver câncer do cólon durante a vida. As mulheres heterozigotas têm um risco um pouco menor, de cerca de 70%, mas têm aproximadamente 40% de risco de câncer endometrial. Também existem riscos adicionais, de 10% a 20%, de câncer das vias biliares e urinárias e de ovário.

O HNPCC é um grupo de cinco síndromes familiares similares (HNPCC1 até HNPCC5) causadas por mutações em um dos cinco genes diferentes de reparo de DNA responsáveis por reparar segmentos de DNA nos quais o pareamento correto de bases de DNA (A com T, C com G) foi violado (ver Caps. 6 e 8). Estes genes, conhecidos como *MLH1*, *MSH2*, *PMSL1*, *PMSL2* e *MSH6*, são todos designados por sua similaridade de seqüência a um grupo de genes microbianos que codificam as enzimas res-

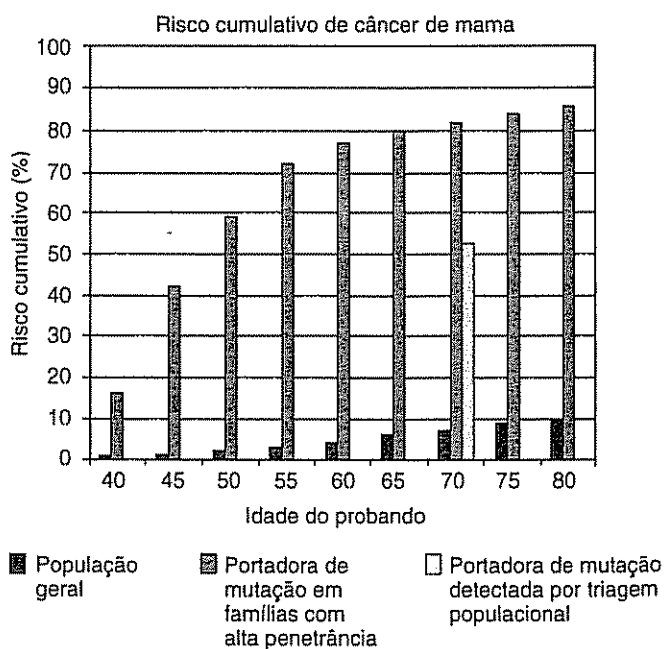


Fig. 16.12 Risco cumulativo de câncer de mama, com a idade, de mulheres portadoras de mutação em *BRCA1* ou *BRCA2*, calculado usando-se dados de famílias com alta penetrância para a mutação (barras vermelhas). O risco é comparado com o risco de câncer de mama na população em geral (barras pretas), bem como com o risco estimado ($\pm 52\%$) aos 70 anos para câncer de mama em uma portadora de mutação *BRCA1* ou *BRCA2* identificada por triagem populacional (barra rosa) e não em famílias com alta penetrância. Ver o texto (Adaptado de King M. C., Rowell S., Love S. M. [1993] Inherited breast and ovarian cancer: What are the risks? What are the choices? *JAMA* 269:1775-1980; Ford D., Easton D. F., Stratton M. et al [1998] Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 62:676-689; Brody L. C., Biasecker B. B. [1998] Breast cancer susceptibility genes *BRCA1* and *BRCA2*. *Medicine* [Baltimore] 77:208-226.)

mediada por anticorpo ou anemia hemolítica. Embora as manifestações desta condição sejam primariamente as de auto-imunidade, os linfomas de célula B e de Hodgkin foram descritos com uma frequência aumentada de 14 e 50 vezes, respectivamente.

Na ALPS, a anomalia primária está no mecanismo de apoptose do linfócito mediado pelo receptor fas e seu ligando, fas-ligando. Tanto fas-ligando quanto fas são homotrimeros. As mutações dominantes negativas (ver Cap. 12) em um alelo de ambos os genes que codificam estas moléculas causam perda de função do receptor ou seu ligando, resultando em deficiência de sinalização apoptótica e intensa expansão de linfócitos T imaturos, conhecidos como células duplo-negativas (porque não têm tanto os marcadores de superfície celular de T-helper [T4] quanto de T-supressor [T8]). Não se sabe exatamente como este defeito na apoptose de linfócitos T pode levar a um aumento de frequência de vários tipos de linfomas, mas pode ser em função de um aumento acentuado do número de células que podem servir como alvos para mutação e, portanto, transformação maligna.

Síndromes de Instabilidade Cromossômica

Quatro síndromes raras autossômicas recessivas de instabilidade cromossômica mencionadas no Cap. 9, **ataxia telangiectasia, anemia de Fanconi, síndrome de Bloom e xeroderma pigmentoso**, estão associadas a um risco aumentado de malignidade, particularmente leucemia, ou, no caso do xeroderma pigmentoso, cânceres de pele nas áreas expostas ao sol (ver Quadro 9.6). Clinicamente, as radiografias devem ser usadas com extrema cautela, ou nunca, em pacientes com ataxia telangiectasia, anemia de Fanconi e síndrome de Bloom. Além disso, a exposição à luz do sol deve ser evitada em pacientes com xeroderma pigmentoso.

Embora a suscetibilidade a danos cromossômicos e de DNA pelos raios X, pela luz ultravioleta ou por alguns agentes químicos e a suscetibilidade à malignidade vista nestas síndromes não estejam totalmente explicadas, os genes para muitos delas foram isolados e demonstrou-se que codificavam proteínas intimamente envolvidas no reparo de DNA e na manutenção da integridade cromossômica e genômica. Assim, os genes que são defeituosos nas síndromes de instabilidade cromossômica podem ser vistos como genes supressores tumorais de manutenção (*caretaker*) (ver Quadro 16.1).

Embora as síndromes de instabilidade cromossômica sejam distúrbios raros autossômicos recessivos, os heterozigotos para estes defeitos gênicos são muito mais comuns e também podem ter um risco aumentado de malignidade. As mulheres heterozigotas que são parentes de homozigotos com ataxia telangiectasia podem ter um risco de ter câncer de mama de quatro a seis vezes maior, se comparadas com esposas controle, por exemplo. Se este achado for definitivamente confirmado, tornará possível identificar, pré-clinicamente, uma classe de pessoas com uma enorme predisposição genética a pelo menos um dos cânceres comuns.

Perda de Genes Supressores Tumorais em Câncer Esporádico

MUTAÇÕES TP53 EM CÂNCERES ESPORÁDICOS

Embora a LPS, que é causada pela herança de mutações na linhagem germinativa em *TP53*, seja uma síndrome familiar rara, as mutações somáticas que causam uma perda de função de ambos os alelos de *TP53* são uma das alterações genéticas mais comuns vistas no câncer esporádico. As mutações do gene *TP53* ou a deleção do segmento do cromossomo 17p (banda p13.1) que inclui *TP53*, ou ambos, são freqüente e repetidamente vistas em

uma ampla gama de cânceres esporádicos, incluindo de mama, ovário, bexiga, cervical, esofágico, colorretal, pele e carcinomas pulmonares, glioblastoma do cérebro, sarcoma osteogênico e carcinoma hepatocelular. O papel central de p53 como supressor tumoral foi destacado pela designação de "Molécula do Ano" pela revista *Science*, em 1993.

BRCA1 E BRCA2 NO CÂNCER DE OVÁRIO E MAMA ESPORÁDICOS

As mutações em *BRCA1* e *BRCA2* foram encontradas em uma pequena porcentagem de pacientes com câncer de ovário ou de mama sem história familiar. Em alguns casos, as mutações eram constitucionais, mas nenhuma história familiar era aparente. Em outros, a análise do próprio tumor revelou uma mutação somática em um alelo de *BRCA1* ou *BRCA2* juntamente com LOH para a região genômica correspondente contendo o outro alelo normal. A hibridização comparativa (ver Cap. 4) foi um método particularmente poderoso usado para triar LOH em tecido de tumor de mama *versus* tecido normal da mesma mulher. LOH foi encontrada em várias regiões cromossômicas, incluindo 1p, 3p, 11p, 13q, 16q e 17p, o que sugere que podem existir muitos genes importantes para a progressão do tumor de mama. Embora o gene no cromossomo 17p provavelmente seja o *TP53*, os outros genes não foram identificados.

CÂNCER HEREDITÁRIO NÃO-POLIPOSE DE CÓLON E GENES DE POLIPOSE ADENOMATOSA FAMILIAR NO CÂNCER DE CÓLON ESPORÁDICO

Em contraste com a baixa frequência com a qual *BRCA1* e *BRCA2* são encontrados mutados na maioria dos cânceres de mama esporádicos, há uma ampla evidência que apóia um grande envolvimento dos genes responsáveis pelo câncer de cólon familiar, tais como HNPCC e FAP, no câncer de cólon esporádico (Fig. 16.15). Em quase 70% dos pólipos adenomatosos das pessoas sem FAP, o modelo de dois eventos para a tumorigênese foi confirmado pelo achado da perda de ambas as cópias de *APC* no adenoma, mas não nos tecidos normais vizinhos. Nos 30% restantes, nos quais *APC* é normal, as mutações em β -catenina que bloqueiam sua fosforilação e degradação foram encontradas em quase metade. O fenótipo RER+, com a associada mutação ou silenciamento transcripcional de ambos os alelos de um ou mais dos genes de reparo de mau pareamento, foi relatado em até 12% do câncer de cólon esporádico nas pessoas sem uma história familiar óbvia de HNPCC. As mutações ativadoras de um membro da família do gene *RAS* (*KRAS*), bem como a perda de ambas as cópias de *TP53*, também são vistas freqüentemente no câncer de cólon esporádico. A perda de expressão de um gene em 18q21, chamado de *DCC* (para deletado no carcinoma de cólon), é observada em mais de 70% dos casos de câncer colorretal. Este gene codifica um receptor para moléculas envolvidas na orientação axonal durante o desenvolvimento normal do sistema nervoso. Em outros 15% de cânceres de cólon esporádicos, o gene *SMAD4*, que está envolvido na sinalização posterior ao receptor TGF β II, está mutado.

Tão importante quanto os defeitos no reparo de mau pareamento são no HNPCC e alguns cânceres de cólon esporádicos, a maioria dos cânceres de cólon esporádicos têm o fenótipo RER+. Estes tumores geralmente têm mutações cromossômicas e genômicas que refletem defeitos seja no reparo de quebras bifilamentares seja na manutenção da fidelidade de como os cromossomos se alinham no fuso mitótico durante a mitose. Os defeitos no primeiro geram translocações cromossômicas, enquanto as anomalias na última podem levar à não-disjunção e à

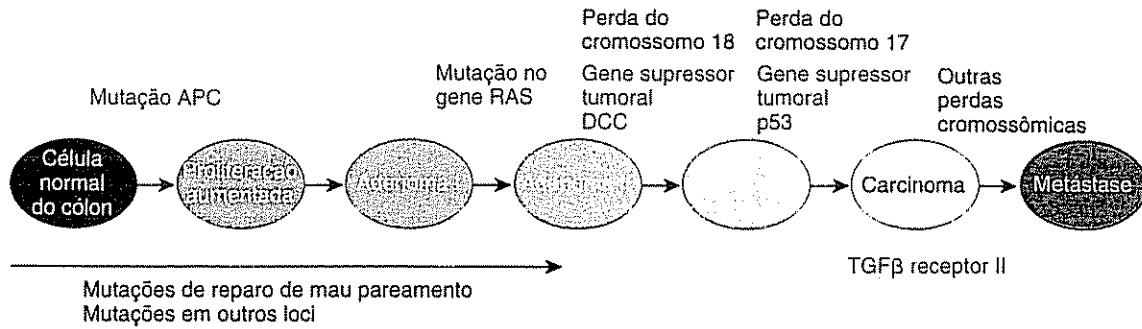


Fig. 16.15 Estágios da evolução do câncer de cólon, servindo como um modelo mais geral para a evolução do câncer (ver Fig. 16.1). Os graus crescentes de anomalia estão associados à perda seqüencial de genes supressores tumorais de vários cromossomos e à ativação do proto-oncogene *RAS*, com ou sem o defeito concomitante no reparo de mau pareamento. A ordem de eventos em geral é como mostrada aqui, mas nem sempre. Por exemplo, o câncer esporádico com reparo anormal de mau pareamento é menos comum que os cânceres sem reparo anormal, mas, quando presente, pode funcionar juntamente com uma via um pouco diferente, mas paralela, levando à malignidade como o ponto final comum (Adaptado de Kinzler K. W., Vogelstein B. [1996] Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87:159-170)

aneuploidia. Em resumo, existem muitos modos para que a divisão celular e o crescimento se desregulem, e muitos outros sem dúvida estão por ser descobertos e elucidados.

PROGRESSÃO TUMORAL POR EVOLUÇÃO CLONAL

Nas síndromes de câncer familiar, o padrão de herança indica que um defeito em um único gene, herdado na linhagem germinativa, é capaz de iniciar um processo em várias etapas que leva ao câncer. Embora muitos destes mesmos genes sejam encontrados mutados nos cânceres esporádicos, tais cânceres podem levar décadas para se desenvolver a ponto de serem clinicamente evidentes e, portanto, é muito mais difícil determinar qual destas mutações de fato iniciou o processo maligno. Além disso, os paradigmas usados para explicar as síndromes hereditárias de câncer, nas quais o desenvolvimento de malignidade requer a ativação de um proto-oncogene, a perda de função de ambos os alelos de um gene supressor tumoral ou a desregulação de processos apoptóticos, são necessariamente muito simplistas. A formação de um tumor é claramente um processo em várias etapas, que envolve uma sucessão de mudanças genéticas na população de células tumorais em evolução (ver Fig. 16.1). As etapas para a malignidade também podem seguir uma única via linear porque mudanças genéticas diferentes, ativadas por defeitos seja no reparo do DNA seja na manutenção da integridade do genoma, podem ocorrer como ramificações de sublinhagens malignas durante a evolução e a progressão do tumor.

Mudanças Citogenéticas no Câncer

ANEUPLOIDIA E ANEUSOMIA

As mudanças citogenéticas são marcos do câncer, particularmente nos estágios mais avançados ou malignos do desenvolvimento do tumor. Tais alterações citogenéticas sugerem que um elemento importante da progressão do câncer inclui defeitos nos genes envolvidos na manutenção da estabilidade cromossômica e na integridade e segregação mitótica precisa.

Inicialmente, a maioria dos estudos citogenéticos da progressão tumoral foi feita nas leucemias, pois as células tumorais eram passíveis de ser cultivadas e cariotipadas por métodos padrão. Por exemplo, quando a CML, com o cromossomo 9;22 Philadelphia, evoluiu

de uma fase crônica tipicamente indolente para uma grave crise blástica que ameaça a vida, podem haver várias anomalias citogenéticas adicionais, incluindo mudanças numéricas ou estruturais, tais como uma segunda cópia do cromossomo 9;22 translocado ou um isocromossomo para 17q. Nos estágios avançados de outras formas de leucemia, outras translocações são comuns.

A hibridização genômica comparativa (CGH) (ver Cap. 4) permitiu que os citogeneticistas de câncer estudassem os tecidos tumorais quanto às mutações genômicas e cromossômicas sem que tivessem de fazer culturas das células tumorais para cariotipagem. Quando as células tumorais puderam ser cariotipadas, o cariótipo espectral (ver Caps. 4 e 9) também revelou uma gama maior de anomalias do que aquelas visíveis pelos métodos anteriores de cariotipagem e identificação cromossômica por bandeamento (ver Fig. 9.5, *encarte colorido*). Uma vasta gama de anomalias é vista em todos os cânceres. Algumas anomalias são vistas apenas ocasionalmente em algumas amostras de tumor e podem ser anomalias aleatórias, enquanto outras são encontradas repetidamente nos cânceres do mesmo tipo histológico. Isto sugere que estas mutações estão envolvidas de algum modo na evolução da malignidade. Outras mudanças são encontradas apenas em metástases de um câncer, mas não no tumor primário original. Um foco das pesquisas de câncer é a definição citogenética e molecular destas anomalias, muitas das quais já se sabe que estão relacionadas a proto-oncogenes ou genes supressores tumorais e, supostamente, permitem uma expressão acentuada de proto-oncogenes ou representam perda de alelos de genes supressores tumorais.

AMPLIFICAÇÃO GÊNICA

Além de translocações e outros rearranjos, uma outra anomalia citogenética vista em muitos cânceres é a **amplificação gênica**, um fenômeno no qual existem muitas cópias adicionais de um segmento do genoma presente na célula. A amplificação gênica é comum em muitos cânceres, incluindo o neuroblastoma, o carcinoma de célula escamosa da cabeça e do pescoço, o câncer colorretal e os glioblastomas malignos do cérebro. Os segmentos amplificados do DNA são prontamente detectados por CGH e surgem como dois tipos de mudanças citogenéticas na análise cromossômica rotineira: os **diminutos duplos** (cromossomos acessórios muito pequenos) e as **regiões de coloração homogênea** (HSRs), que normalmente não são bandeadas e contêm múltiplas cópias amplificadas de um segmento em particular do DNA. Ain-

da é pouco compreendido como e por que ocorrem os diminutos duplos e as HSRs, mas sabe-se que as regiões amplificadas incluem cópias extras de proto-oncogenes, tais como os genes que codificam *myc*, *ras* e o receptor de fator de crescimento epitelial, que estimulam o crescimento celular ou são bloqueadores de apoptose, ou ambos. Por exemplo, a amplificação do proto-oncogene *MYCN* que codifica *n-myc* é um importante indicador clínico de prognóstico no câncer infantil **retinoblastoma** (Fig. 16.6). *MYCN* é amplificado mais de 200 vezes em 40% dos estágios avançados do neuroblastoma. A despeito de um tratamento agressivo, apenas 30% dos pacientes com a doença avançada sobrevivem por 3 anos. Em contraste, a amplificação *MYCN* é encontrada em apenas 4% do neuroblastoma de estágio inicial, e a sobrevida por 3 anos é de 90%. A amplificação dos genes codificando os alvos dos agentes quimioterápicos também foi implicada como um mecanismo de desenvolvimento de resistência a drogas em pacientes previamente tratados com quimioterapia.

CÂNCER E AMBIENTE

O risco de câncer mostra uma variação significativa entre populações diferentes e dentro da mesma população em ambientes diferentes. Por exemplo, o câncer gástrico é quase três vezes tão comum entre os japoneses no Japão quanto entre os japoneses que vivem no Havaí ou em Los Angeles. Assim, parece que uma proporção considerável do risco deve depender da exposição a mutágenos e carcinógenos do ambiente. A natureza dos carcinógenos ambientais, a avaliação do risco adicional associado à exposição e os meios de proteger a população de tais ameaças são assuntos de grande preocupação pública.

O tema deste capítulo é que o câncer é uma doença genética, mas não há contradição em considerar o papel do ambiente na carcinogênese. Os agentes ambientais atuam como mutágenos que causam mutações somáticas. As mutações somáticas, por sua vez, são responsáveis pela carcinogênese. De acordo com algumas estimativas baseadas principalmente em dados dos resultados das bombas de Hiroshima e Nagasaki, até 75% do risco de câncer pode ser de origem ambiental.

Radiação

Sabe-se que a radiação ionizante causa um aumento de risco de câncer. Os dados dos sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki e outras populações expostas mostram um longo período de latência, na faixa de 5 anos para a leucemia, mas de até 40 anos para alguns tumores. O risco depende da idade, sendo maior para as crianças com menos de 10 anos e para os idosos. Como já foi observado, a radiação é muito mais perigosa para pessoas com erros hereditários de reparo do DNA que para a população em geral. Todos nós estamos expostos em algum grau à radiação ionizante pela radiação ambiental (que varia muito de um local para outro), exposição médica e energia nuclear. Infelizmente, ainda existem grandes áreas de incerteza sobre a magnitude dos efeitos da radiação, especialmente a radiação de baixo nível, nos riscos de câncer.

Carcinógenos Químicos

O interesse no efeito carcinogênico das substâncias químicas data de pelo menos o século XVIII, quando se observou a alta incidência de câncer escrotal nos jovens limpadores de chaminés. Hoje em dia, há uma preocupação quanto a muitos carcinógenos químicos possíveis, especialmente o tabaco, os componentes da dieta, os carcinógenos industriais e os dejetos tóxicos. A documentação sobre o risco de exposição em geral é difícil, mas o nível de preocupação é tal que todos os clínicos devem ter um conhecimento sobre o assunto e devem ser capazes de distinguir os fatos bem-estabelecidos das áreas de incerteza e debate.

Uma área importante na qual os fatores genéticos e ambientais podem interagir para aumentar ou evitar os efeitos carcinogênicos das substâncias químicas é nos genes que codificam enzimas do metabolismo de drogas e substâncias exógenas. Uma classe de enzimas do metabolismo de drogas, codificadas pela família dos genes de **citocromo P450** (*CYP*) (das quais existem dúzias e talvez mesmo centenas no genoma humano), é responsável pela desintoxicação de substâncias exógenas. Vários genes *CYP* são polimórficos e são subjacentes ao metabolismo de drogas (ver discussão de farmacogenética no Cap. 12). Um po-

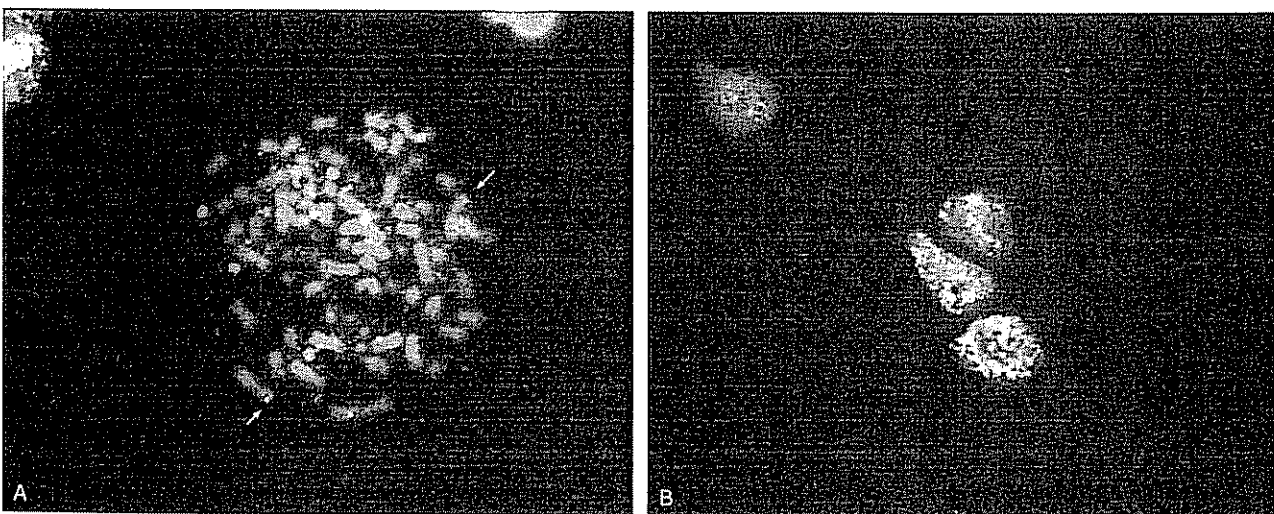


Fig. 16.16 Hibridização *in situ* de fluorescência com sonda *MYCN* em neuroblastoma avançado. A. Metáfase de uma célula tetraplóide de neuroblastoma mostrando diminutos duplos. A intensidade do sinal de fluorescência varia de acordo com o tamanho do diminuto duplo e o número de cópias de *MYCN* que contém. As setas apontam os sinais de fluorescência que surgem do locus normal *MYCN* no cromossomo 2p distal. B. Núcleo interfásico de células de neuroblastoma mostrando graus variados de intensidade de fluorescência que surge de cromossomos diminutos duplos. (Foto por cortesia de J. Biegel, Children's Hospital of Philadelphia.)

limorfismo genético bem-estudado foi associado à suscetibilidade ao câncer de pulmão. A enzima **aril hidrocarboneto hidroxilase (AHH)** é uma proteína induzível envolvida no metabolismo de hidrocarbonetos policíclicos, tais como os encontrados no fumo de cigarros. A AHH converte os hidrocarbonetos na forma epóxido, que é mais facilmente excretada pelo corpo, mas que também é carcinogênica. A extensão do metabolismo de hidrocarbonetos é geneticamente controlada e apresenta variação polimórfica na população normal. As pessoas que têm um alelo de alta "inducibilidade", particularmente os que são fumantes, parecem correr um risco aumentado de câncer de pulmão. Os dados indicam que o próprio fumo de cigarros induz a expressão do gene *CYP1A1* (que codifica AHH) nas pessoas com um alelo de alta "inducibilidade". Por outro lado, os homocigotos para o alelo recessivo de baixa "inducibilidade" parecem ser menos propensos a desenvolver câncer de pulmão, possivelmente porque sua AHH é menos efetiva no que diz respeito a converter os hidrocarbonetos em carcinógenos altamente reativos.

Um segundo polimorfismo da enzima citocromo P450, que controla a habilidade em metabolizar o composto debrisoquina (um agente bloqueador beta-adrenérgico), também foi associado a um aumento de suscetibilidade ao câncer de pulmão. Uma pequena proporção de pessoas é de "metabolizadores pobres" de debrisoquina e são homocigotas para um alelo recessivo no gene *CYP2D6* no cromossomo 22. Estas pessoas parecem ser mais resistentes aos efeitos carcinogênicos potenciais do fumo de cigarros ou carcinógenos pulmonares ocupacionais (tais como asbestos ou hidrocarbonetos aromáticos policíclicos). Os "metabolizadores amplos" (homocigotos para um alelo *CYP2D6*) têm um risco quatro vezes maior de câncer de pulmão que os "metabolizadores pobres". O risco aumenta 18 vezes entre as pessoas expostas rotineiramente a carcinógenos pulmonares. Uma associação similar foi relatada para o câncer de bexiga.

Embora a base genética e bioquímica exata para as diferenças aparentes na suscetibilidade dentro da população normal ainda não tenham sido determinadas, estas associações podem ter significativas consequências na saúde pública e podem, eventualmente, indicar um modo de identificar as pessoas que são geneticamente predispostas ao desenvolvimento de câncer.

CONCLUSÃO

O câncer é um distúrbio genético no qual o controle da proliferação celular está perdido. O mecanismo básico em todos os cânceres é a mutação, seja na linhagem germinativa ou, com muito mais frequência, nas células somáticas. Ainda resta muito a aprender sobre os processos genéticos da carcinogênese e sobre os fatores ambientais que podem alterar o DNA e assim levar à malignidade. É provável que novas descobertas sobre o papel fundamental das mudanças no DNA na carcinogênese levem, em um futuro próximo, a modos melhores e mais específicos de detecção precoce, prevenção e tratamento das doenças malignas.

Referências Gerais

- Fearon ER (1999) Cancer progression. *Curr Biol* 9:R873–R875.
 Fearon ER (1997) Human cancer syndromes: Clues to the origin and nature of cancer. *Science* 278:1043–1049.
 Kinzler KW, Vogelstein B (1996) Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87:159–170.
 Kinzler KW, Vogelstein B (1997) Cancer susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 386:761–763.
 Knudson AG (1996) Hereditary cancer: Two hits revisited. *J Cancer Res Clin Oncol* 122:135–140.
 Knudson AG (1997) Hereditary predisposition to cancer. *Ann NY*

- Acad Sci* 833:58–67.
 Look AT (1997) Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 278:1059–1063.
 Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B (1998) Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396:643–649.
 Mitelman F (1998) Catalogue of Chromosome Aberrations in Cancer, 6th ed. on CD-ROM. John Wiley & Sons, New York.
 Nowell PC, Rowley JD, Knudson AG Jr (1998) Cancer genetics, cytogenetics—defining the enemy within. *Nat Med* 4:1107–1111.
 Offit K (1997) Clinical Cancer Genetics: Risk Counseling and Management. Wiley-Liss, New York.
 Perera FP (1997) Environment and cancer: Who are susceptible? *Science* 278:1068–1073.
 Vogelstein B, Kinzler KW (1998) The Genetic Basis of Human Cancer. McGraw Hill, New York.

Referências Específicas aos Tópicos Particulares

- Burke W, Daly M, Garber J, et al (1997) Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer II. BRCA1 and BRCA2. *JAMA* 277:997–1003.
 Cahill DP, Lengauer C, Yu J, et al (1998) Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature* 392:300–303.
 Eshleman JR, Markowitz SD (1995) Microsatellite instability in inherited and sporadic neoplasms. *Curr Opin Oncol* 7:83–89.
 Fearon ER, Dang CV (1999) Cancer genetics: Tumor-suppressor meets oncogene. *Curr Biol* 9:R62–R65.
 Holt SE, Shay JW (1999) Role of telomerase in cellular proliferation and cancer. *J Cell Physiol* 180:10–18.
 Ivanovich JL, Read TE, Ciske DJ, et al (1999) A practical approach to familial and hereditary colorectal cancer. *Am J Med* 107:68–77.
 Jones PA, Laird PW (1999) Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 21:163–167.
 Morin PJ (1999) β -catenin signaling and cancer. *Bioessays* 21:1021–1030.
 Rowley JD (1990) The Philadelphia chromosome translocation: A paradigm for understanding leukemia. *Cancer* 65:2178–2184.
 St John DJ, McDermott FT, Hopper JL, et al (1993) Cancer risk in relatives of patients with common colorectal cancer. *Ann Intern Med* 118:785–790.
 Weinberg RA (1990) The genetic basis of cancer. *Arch Surg* 125:257–260.

Problemas

- Um paciente com retinoblastoma tem um único tumor em um olho. O outro olho está livre de tumores. Que etapas você tentaria para determinar se é um retinoblastoma esporádico ou hereditário? Que consulta genética você daria? Que informação os pais devem receber antes de uma gestação subsequente?
- Discuta os possíveis motivos pelos quais o câncer colorretal é um câncer adulto, enquanto o retinoblastoma afeta crianças.
- Muitos tipos de tumor são caracterizados pela presença de um isocromossomo do braço longo do cromossomo 17. Cite uma possível explicação para este achado.
- Muitas crianças com anemia de Fanconi têm defeitos nos membros. Se uma criança afetada precisa de uma cirurgia em um membro anormal, que considerações especiais surgem?
- Wanda, cuja irmã tem câncer de mama bilateral pré-menopausa, tem um risco maior de desenvolver câncer de mama (de 30% a 50%) que Wilma, cuja irmã tem câncer de mama pré-menopausa em apenas uma mama (de 10% a 15%). Tanto Wanda quanto Wilma, entretanto, têm um risco maior que Winnie, que tem uma história familiar totalmente negativa (cerca de 5% a 10%). Considerando a informação deste capítulo e do Cap 15, forneça uma explicação para estes riscos empíricos.