

Evidências recentes indicam que aproximadamente uma em quatro mortes seja hoje em dia devida ao câncer e que mais da metade da população vai ser diagnosticada com câncer invasivo em algum momento de suas vidas. Vários tipos de câncer estão aumentando de frequência, principalmente devido ao aumento relativo de grupos de pessoas mais velhas na nossa população. Como mostrado neste capítulo, as causas do câncer são uma mistura de componentes do meio ambiente e alterações genéticas que ocorrem nos nossos tecidos. A predisposição herdada representa um papel em algumas famílias. Avanços importantes em biologia molecular e genética esclareceram os elementos moleculares básicos do câncer e forneceram um perfil esquemático dos eventos celulares que levam ao câncer. Este entendimento vai ser crucialmente importante no controle do câncer, fornecendo o começo da base de conhecimento que deve levar a terapias significativamente melhores e, possivelmente à prevenção.

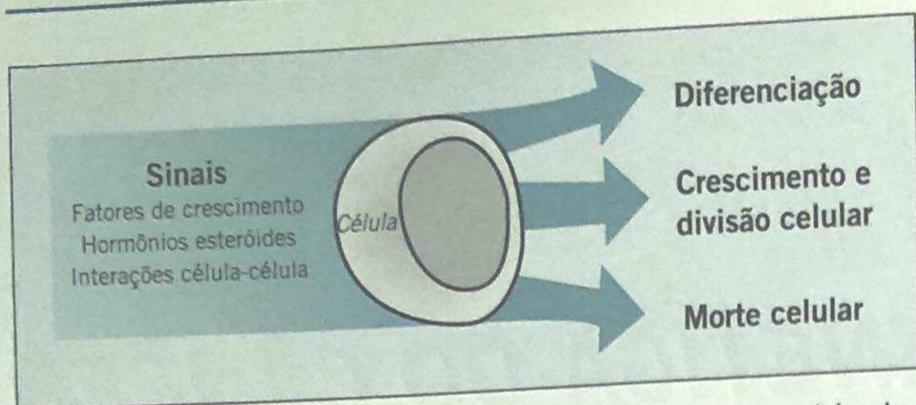
O “câncer” é uma coleção de doenças que compartilham a característica comum de crescimento celular incontrolado. Isto leva a uma massa de células denominada **neoplasia** (do grego, “nova formação”), ou tumor. A formação de tumores é chamada de **tumorogênese**. Vários eventos-chave precisam ocorrer para as células escaparem das restrições que evitam a proliferação incontrolada. Sinais adicionais de crescimento devem ser produzidos e processados e as células devem tornar-se resistentes aos sinais que normalmente inibem o crescimento. Como estas características anormais tipicamente levariam ao processo de morte celular programada (**apoptose**), as células devem de alguma forma invalidar este processo. A massa de células crescente (tumor) requer nutrição, então um novo abastecimento sanguíneo deve ser obtido pela **angiogênese** (formação de novos vasos sanguíneos). Sinais inibitórios adicionais devem ser superados para que o tumor atinja um

estado **maligno**, no qual a neoplasia invade os tecidos próximos e se espalha (**metástase**) para locais mais distantes no corpo. A capacidade de invadir e de formar metástase distingue as neoplasias malignas das **benignas**.

Os tumores são classificados de acordo com o tipo de tecido em que eles surgem. Os principais tipos de tumor incluem os do tecido epitelial (**carcinomas**, os tumores mais comuns), os de tecido conjuntivo (**sarcomas**), os de tecido linfático (**linfomas**), os das células glia do sistema nervoso central (**gliomas**) e os dos órgãos hematopoéticos (**leucemias**). As células que compõem o tumor são geralmente derivadas de um único ancestral celular, tornando-o um clone único (**monoclonal**).

Várias das características básicas da **carcinogênese** (desenvolvimento do câncer) são agora compreendidas. Ao longo de nossas vidas, várias de nossas células continuam crescendo e se diferenciando. Elas formam, por exemplo, as camadas epiteliais dos nossos pulmões e cólons e os precursores das nossas células imunes. Células-tronco relativamente indiferenciadas produzem inúmeras células genitoras para repovoar e renovar as nossas camadas defensivas gastas. Por meio da integração da informação providenciada por um arranjo complexo de sinais bioquímicos, as novas células são designadas a pararem de se dividirem e se comprometerem com o tipo celular apropriado para a sua herança e circunstâncias (Fig. 11.1).

Ocasionalmente, uma destas células vai fracassar em se diferenciar e vai começar a se dividir sem controle. Os descendentes destas células podem se tornar os fundadores das neoplasias, capazes de se transformarem em câncer metastático. Nossos objetivos são entender em detalhes o que deu errado neste tipo de célula marota, detectá-las inicialmente em suas carreiras e, finalmente, intervir no seu desenvolvimento para eliminá-las.



**FIGURA 11.1** ■ Em resposta a sinais do meio ambiente, uma célula pode continuar a se dividir, ou se diferenciar, ou morrer (apoptose).

■ As células do corpo são “programadas” para se desenvolver, crescer, diferenciar e morrer em resposta a um complexo sistema de sinais bioquímicos. O câncer resulta da emergência de um clone de células livres destas restrições de programação desenvolvimental e capazes de proliferação imprópria.

## CAUSAS DO CÂNCER

### Considerações Genéticas

Alterações genéticas nos sistemas regulatórios da célula são a base primária da carcinogênese. Podemos criar câncer em modelos animais danificando genes específicos. Em um sistema de cultura celular, nós podemos reverter um fenótipo de câncer introduzindo na célula cópias normais dos genes danificados. A maioria dos eventos genéticos que causam câncer ocorre ao longo da vida do indivíduo, nos seus tecidos somáticos. A frequência destes eventos pode ser alterada por exposição a mutagênicos, estabelecendo assim, uma ligação aos **carcinógenos** do meio ambiente (agentes causadores de câncer). No entanto, como estes eventos ocorrem em células somáticas, eles não são transmitidos para gerações futuras. Ainda que existam eventos *genéticos*, eles não são *herdados*.

Também é possível que mutações de predisposição ao câncer ocorram nas células da linhagem germinativa. Isto resulta em transmissão dos genes causadores de câncer de uma geração para a outra, produzindo famílias que têm alta frequência de cânceres específicos (Fig. 11.2). Estas “famílias de câncer”, ainda que raras, demonstram que a herança de um gene danificado pode causar câncer. Nestas famílias, a herança de um alelo mutado parece ser suficiente para causar uma forma específica de câncer; praticamente todos os indivíduos que herdam o alelo mutado vão desenvolver o tumor. Isto porque cada uma de suas células carrega agora o gene alterado e, assim, já deram o primeiro passo rumo ao câncer. O câncer de olho infantil, retinoblastoma, é um bom exemplo. Como discutido no Capítulo 4, aqueles que

herdam a versão mutante do gene do retinoblastoma têm aproximadamente 90% de chance de desenvolver um ou mais tumores retinoblastoma.

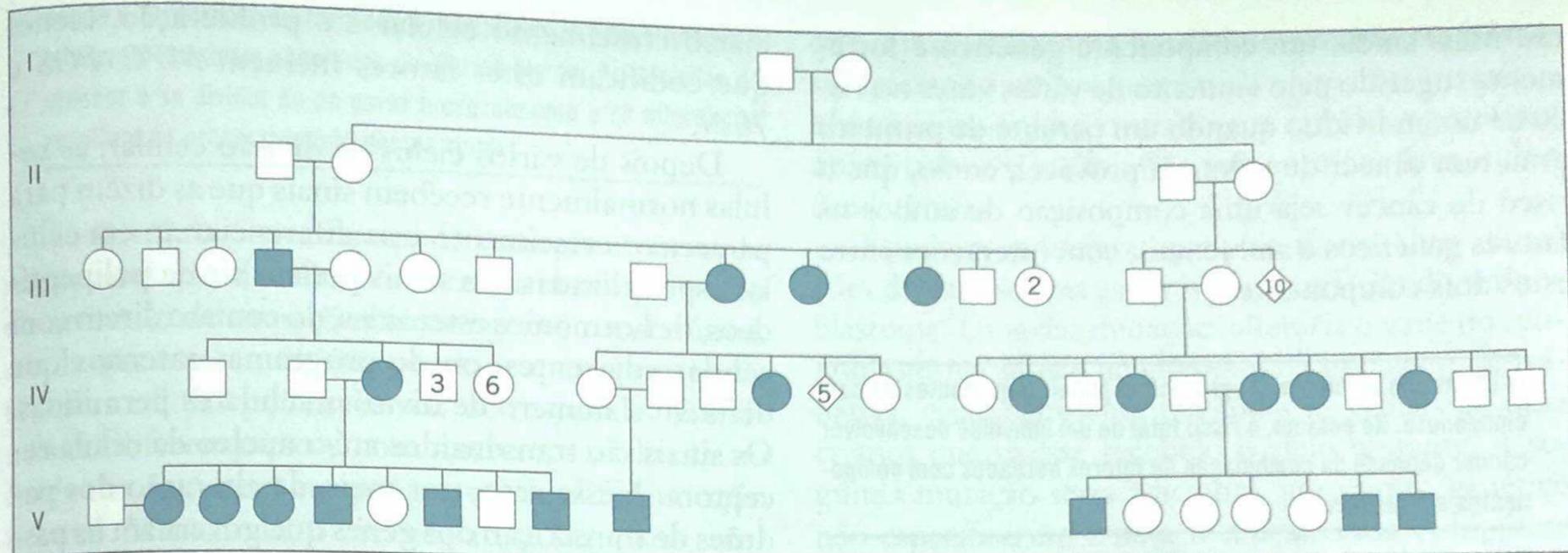
Enquanto a transmissão do câncer como uma doença de gene único é relativamente incomum, existe boa evidência de agrupamentos mais frequentes de alguns tipos de cânceres em famílias. Para vários tipos de câncer, como o de mama e o de cólon, o diagnóstico do câncer em um parente de primeiro grau implica pelo menos um aumento de duas vezes na chance de uma pessoa desenvolver o câncer. Uma base genética para este agrupamento familiar de câncer é sugerida mas permanece não especificada. Entretanto, é possível que a transmissão genética de formas alteradas de genes específicos sejam responsáveis.

A extensão do quanto cada um destes mecanismos – mutações herdadas na linhagem germinativa *versus* mutações que ocorrem nas células somáticas – contribui para o câncer humano é uma questão importante. Se as predisposições herdadas são significativamente determinantes no risco de um indivíduo desenvolver um determinado tipo de câncer, seria possível identificar indivíduos nos quais o risco é elevado. O rastreamento mais intenso das populações de alto risco poderia resultar em detecção preventiva e intervenção, levando a prognósticos melhores para indivíduos e diminuição da morbidade e da mortalidade na população.

■ A causa básica do câncer é o dano a genes específicos. Geralmente, mutações nestes genes se acumulam em células somáticas ao longo dos anos, até que a célula perde um número crítico de mecanismos de controle do crescimento e inicia um tumor. Se o dano ocorrer nas células da linhagem germinativa, porém, uma forma alterada de um destes genes será transmitida para a prole e predisporá-os ao câncer. O risco maior de câncer nestes indivíduos se deve ao fato de cada uma de suas células já ter dado o primeiro passo de uma série rumo ao câncer.

### Considerações Ambientais

Qual o papel do meio ambiente na carcinogênese? Ao nível da celular, o câncer parece ser intrinsecamente genético. Os tumores celulares surgem quando determinadas mudanças, ou mutações ocorrem em genes responsáveis pela regulação do crescimento da célula. Todavia, a frequência e as consequências destas mutações podem ser alteradas por um grande número de fatores ambientais. Está bem documentado, por exemplo, que várias substâncias químicas que causam mutação em animais experimentais também causam câncer e são, assim, carcinógenos. Mais ainda, outros agentes ambientais podem estimular o crescimento de células geneticamente



**FIGURA 11.2** ■ Heredograma de câncer de cólon familiar. Os símbolos escuros representam indivíduos diagnosticados com câncer de cólon.

alteradas sem causarem novas mutações diretamente. Assim, é freqüentemente a interação de genes com o meio ambiente que determina a carcinogênese; ambos representam papéis-chave neste processo.

Dois argumentos adicionais apóiam a idéia de que a exposição a agentes ambientais pode alterar significativamente o risco individual de câncer. O primeiro é que inúmeros agentes ambientais com propriedades carcinogênicas já foram identificados. Por exemplo, já se mostrou que o cigarro causa câncer de pulmão e outros tipos de câncer; em ambos os casos mediante estudos epidemiológicos e de experimentos em laboratório. Os papéis de outros agentes ambientais em cânceres específicos também estão bem documentados (ex., poeira de urânio em câncer de pulmão dentre os mineiros, exposição a amianto em câncer de pulmão e mesotelioma).

O segundo argumento é fundamentado em comparações epidemiológicas entre populações com estilos de vida diferentes. Vários tipos de cânceres têm freqüências bastante diferentes em diversas populações. O câncer de mama, por exemplo, é prevalente entre mulheres dos EUA e do norte da Europa, mas relativamente raro entre mulheres de países em desenvolvimento. É geralmente difícil determinar se estas diferenças refletem diferenças no estilo de vida ou em freqüências gênicas.

O exame de populações geneticamente semelhantes mas que têm diferentes estilos de vida, porém, fornece uma oportunidade de avaliar os componentes genéticos e ambientais do câncer. Estudos epidemiológicos em populações japonesas migrantes, por exemplo, revelaram achados importantes no que diz respeito ao câncer de cólon. Este tipo de câncer é relativamente raro em populações japonesas morando no Japão, mas é a segunda forma de câncer mais comum nos EUA. O câncer de estômago, por outro

lado, é freqüente no Japão, mas relativamente raro nos EUA. Estas estatísticas não permitem a distinção das influências genéticas das ambientais nas duas populações. No entanto, devido ao grande número de japoneses que emigraram primeiro para o Havaí e depois para os EUA, podemos observar o que acontece com as taxas de câncer de cólon e de estômago entre os emigrantes. É importante ressaltar que vários dos emigrantes japoneses mantiveram a identidade genética, casando-se principalmente entre eles próprios.

Na população dos EUA como um todo, o risco de um câncer de cólon é de aproximadamente 5%; no Japão, este risco é dez vezes menor, somente 0,5%. Entre os japoneses da primeira geração no Havaí, a freqüência de câncer de cólon cresceu várias vezes – ainda não tão alta como nos EUA, porém maior que no Japão. Entre os japoneses da segunda geração nos EUA, o risco de câncer de cólon é de 5%, igual à média dos EUA. Ao mesmo tempo, o câncer de estômago é relativamente raro entre os japoneses-norte-americanos. Estas observações sugerem fortemente um papel importante do meio ambiente e do estilo de vida na etiologia do câncer de cólon.

Podemos supor então que os fatores genéticos não possuem nenhum papel no câncer de cólon? O fato é que no meio ambiente dos EUA alguns indivíduos vão desenvolver câncer de cólon e outros não. Esta distinção pode resultar de diferenças dentro deste meio ambiente (ex., variação na dieta), bem como das diferenças das predisposições genéticas: genes herdados que aumentam a probabilidade individual de desenvolver câncer. Para justificar a diferença na freqüência do câncer de cólon entre os japoneses que moram nos EUA e os que moram no Japão, porém, argumentamos que os fatores ambientais no Japão tornam os genes de predisposição menos penetran-

tes. Mais ainda, um componente genético é fortemente sugerido pelo aumento de várias vezes no risco de um indivíduo quando um parente de primeiro grau tem câncer de cólon. É provável, então, que o risco de câncer seja uma composição de ambos os fatores genéticos e ambientais, com interações entre estes dois componentes.

■ Os fatores ambientais representam papéis importantes na carcinogênese. No entanto, o risco total de um indivíduo desenvolver câncer depende da combinação de fatores herdados com componentes ambientais.

## GENES DE CÂNCER

### Controle genético do crescimento celular e da diferenciação

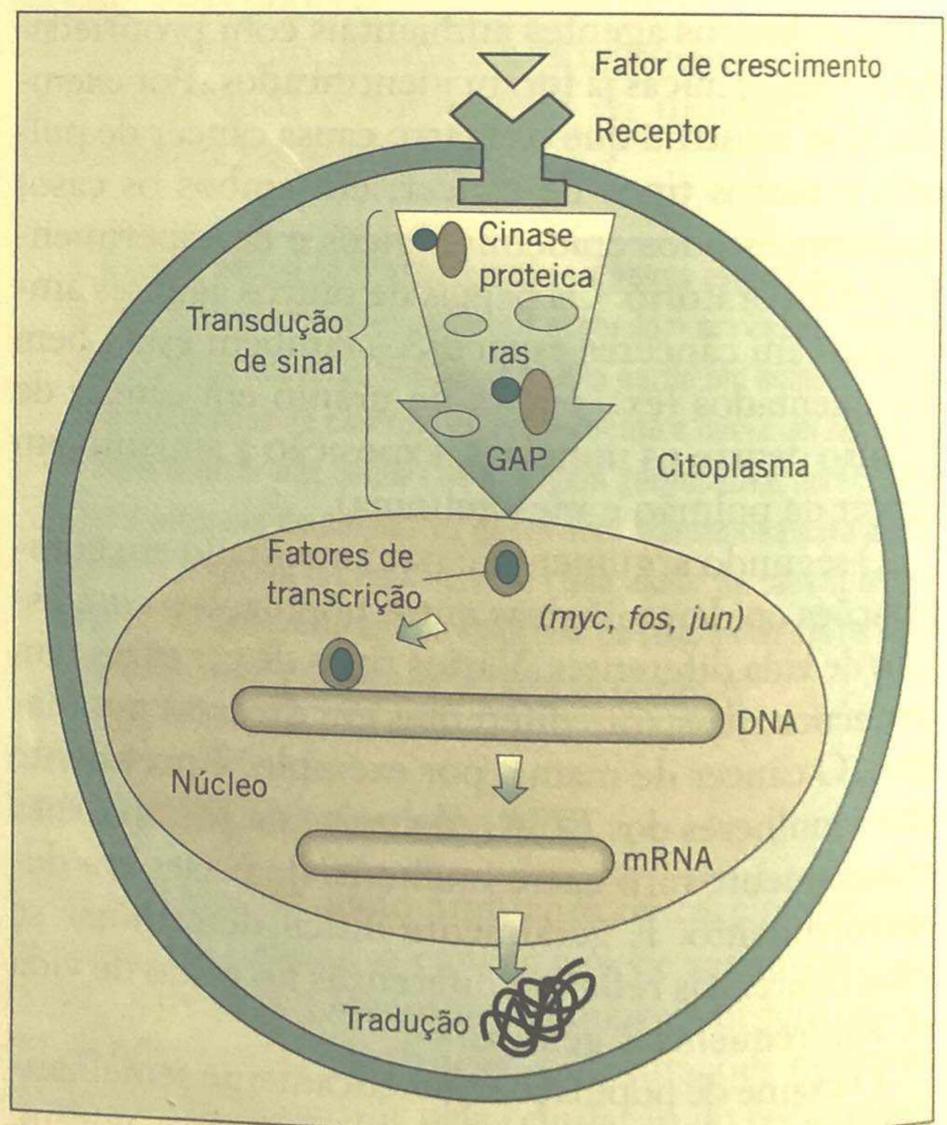
Os cânceres se formam quando emerge um clone de células que perdeu os controles normais sobre o crescimento e a diferenciação. Mais de 100 genes causadores de câncer que codificam proteínas que participam nesta regulação já foram identificados. A caracterização de atividades bioquímicas e de interações destes produtos gênicos revelou um retrato detalhado da regulação normal do crescimento e da diferenciação celulares e as maneiras de como estes processos se tornam desregulados por eventos de carcinogênese.

Várias características deste processo fundamental já são compreendidas (Fig. 11.3). Um componente da regulação celular é mediado por sinais externos que chegam até a célula através de **fatores de crescimento** (ex., fatores de crescimento derivados de plaquetas, fatores de crescimento epidermais, hormônios esteróides) produzidos por outras células. Cada fator de crescimento interage com **receptores de fatores de crescimento** específicos localizados na superfície celular. A ligação do fator de crescimento ao receptor ativa o receptor, ativando moléculas que enviam mensagens para o núcleo celular em um processo denominado **transdução de sinal**. Estas moléculas de transdução de sinais incluem **cinases proteicas**, como a tirosina cinase src, a cinase proteica ativada por mitógeno (MAPK) e a cinase jun (Junk), que podem alterar a atividade de proteínas-alvo marcando-as em sítios específicos com uma molécula de fosfato (fosforilação). O estágio final da via de transdução de sinal é a regulação da transcrição do DNA no núcleo. Componentes da cascata de transdução de sinais interagem com fatores de transcrição nucleares que regulam a atividade de genes específicos cujos produtos proteicos podem influen-

ciar o crescimento celular e a proliferação. Genes que codificam estes fatores incluem *MYC*, *FOS* e *JUN*.

Depois de vários ciclos de divisão celular, as células normalmente recebem sinais que as dizem para pararem o crescimento e se diferenciarem em células especializadas. Os sinais podem vir de polipeptídeos, de hormônios esteróides, do contato direto com células adjacentes, ou de programas internos que definem o número de divisões celulares permitidas. Os sinais são transduzidos até o núcleo da célula receptora. Nesse caso, por meio da alteração dos padrões de transcrição dos genes que governam os passos do ciclo celular, eles reprimem genes que promovem a divisão celular e induzem genes que inibem a entrada no ciclo de divisão celular.

■ A regulação do crescimento celular é acompanhada de substâncias que incluem (1) fatores de crescimento que transmitem sinais de uma célula para a outra; (2) receptores específicos para os fatores de crescimento; (3) moléculas de transdução de sinais que ativam uma cascata de reações de fosforilação dentro da



**FIGURA 11.3** ■ Características principais da regulação celular. *Fatores de crescimento* externos (proteínas e hormônios esteróides como o fator de crescimento epidérmico) se ligam a *receptores de fatores de crescimento* espalhados na membrana celular, ativando *vias de transdução de sinais* onde genes como *RAS* participam. Componentes da via de transdução de sinais, em troca, interagem com *fatores de transcrição nucleares*, como *MYC* e *FOS*, que podem se ligar a regiões regulatórias do DNA.

célula e (4) fatores de transcrição nucleares. A célula integra e interpreta os sinais recebidos do seu ambiente. As decisões de crescer e se dividir, ou de parar o crescimento e se diferenciar resultam do processamento destes sinais.

Uma célula cancerosa pode emergir a partir de uma população de células em crescimento por meio do acúmulo de mutações nestes genes regulatórios. Ainda que estas mutações ocorram apenas raramente, estas células podem deixar de responder aos sinais de diferenciação e continuarem a se dividir ao invés de entrarem no programa de diferenciação normal. Mais ainda, o câncer parece ser quase sempre resultado de uma série de eventos *progressivos* que aumentam a extensão da desregulação dentro da linhagem celular. Finalmente, emerge uma célula cujos descendentes se multiplicam sem os controles apropriados. Mudanças adicionais dão a estas células capacidade de invadirem tecidos adjacentes e formarem metástase. Cada uma destas mudanças envolve mutações, e a necessidade de mais de uma mutação já foi caracterizada como **conceito multievento (multi-hit) da carcinogênese**. Um exemplo deste conceito é dado pelo câncer colorretal, no qual vários eventos genéticos são necessários para completar a progressão do crescimento benigno para a neoplasia maligna (veja discussão posterior).

■ As mutações podem ocorrer em qualquer um destes passos envolvidos na regulação do crescimento celular e na diferenciação. O acúmulo destas mutações em uma linhagem celular pode resultar em desregulação progressiva do crescimento, finalmente produzindo uma célula tumoral.

### Gene de câncer herdado *versus* gene somaticamente alterado

Ainda que “famílias de câncer” já tivessem sido reconhecidas há muito tempo, somente no começo dos anos 1970 se começou a entender a relação entre as aberrações genéticas herdadas e os eventos carcinogênicos que ocorrem nos tecidos somáticos. Em 1971, a análise de A.G. Knudson do retinoblastoma, uma doença anteriormente mencionada como modelo de câncer herdado, levou-o à hipótese que abriu uma nova janela para o mecanismo da carcinogênese. Na forma genética do retinoblastoma (veja o Capítulo 4), um indivíduo afetado geralmente tem um dos pais afetados e existe 50% de chance da transmissão genética para cada um dos filhos. Na forma esporádica (não-herdada), nenhum dos pais é afetado nem existe risco adicional para a progênie. Uma característica-chave que distingue as duas formas é

que o retinoblastoma herdado é geralmente bilateral (afetando ambos os olhos), enquanto o retinoblastoma esporádico usualmente envolve apenas um único tumor e assim afeta somente um único olho (unilateral).

Knudson raciocinou que pelo menos duas mutações deviam ser necessárias para a criação do retinoblastoma. Uma das mutações alteraria o gene do retinoblastoma; se isto acontecesse na linhagem germinativa, estaria presente em todas as células de uma criança que tivesse recebido o alelo mutante. A segunda mutação seria adicional, um evento genético não-específico em uma célula já alterada. A hipótese de um segundo evento era necessária para explicar por que somente uma pequena fração dos retinoblastos de um indivíduo realmente origina os tumores. A hipótese de Knudson é conhecida como o **modelo de carcinogênese de dois eventos (two-hit)**.

O retinoblastoma familiar seria, então, causado pela herança de um dos eventos genéticos como mutação **constitutiva** (i. e., uma mutação presente em todas as células do corpo). Indivíduos que herdaram um evento precisariam somente de evento mutacional adicional em um único retinoblasto para que a célula gerasse um tumor. Por outro lado, nos casos esporádicos, ambas as mutações deveriam ocorrer independentemente no mesmo retinoblasto, uma combinação altamente improvável de eventos raros considerando as milhares de células do tecido-alvo. A criança que desenvolvesse o retinoblastoma por esta via de dois eventos *somáticos* improvavelmente desenvolveria mais de um tumor. O indivíduo que *herdasse* o gene mutante do retinoblastoma, no entanto, precisaria somente de um único evento genético adicional em um retinoblasto para que um clone tumoral se desenvolvesse. Knudson argumentou que este evento era provável de ocorrer em vários retinoblastos de cada portador do gene mutante herdado, explicando, assim, a bilateralidade do retinoblastoma herdado.

Um corolário importante desta hipótese de dois eventos é que os genes nos quais as mutações herdadas causam síndromes de câncer familiar podem ser os mesmos que os que geram o câncer comum por mutação somática. *Compreendendo a natureza dos alelos mutantes herdados nas raras famílias de câncer, conseqüentemente, entenderemos melhor a via somática do câncer comum também.* A recíproca também é verdadeira: a compreensão dos genes somaticamente mutados pode ajudar na compreensão das versões herdadas.

■ A teoria da carcinogênese de Alfred Knudson para o retinoblastoma tornou-se o paradigma para um modelo que descreve como a herança de gene alterado predispõe ao câncer o portador do gene. A teoria diz que uma célula pode iniciar um tumor

somente quando contém dois alelos danificados; conseqüentemente, uma pessoa que herda uma cópia mutada do gene do retinoblastoma precisa sofrer uma segunda mutação em um ou mais retinoblastos para que possa desenvolver um ou mais retinoblastomas. Duas mutações somáticas também podem ocorrer em um único retinoblasto de um feto não predisposto, produzindo retinoblastoma esporádico.

## PRINCIPAIS CLASSES DE GENES DE CÂNCER

Genes de câncer podem ser classificados em três categorias principais: aqueles que normalmente inibem a proliferação celular (supressores de tumor), aqueles que ativam a proliferação (oncogenes) e aqueles que participam no reparo de DNA. Cada uma destas categorias será discutida.

### Genes Supressores de Tumor

Se o primeiro evento em um modelo de dois eventos é uma mutação herdada, qual a natureza do segundo evento? Mais uma vez com o retinoblastoma como paradigma, duas possibilidades parecem plausíveis a princípio: (1) a segunda mutação poderia afetar a função de um gene distinto do gene do retinoblastoma, e a presença de dois genes mutantes na mesma célula resultaria no tumor; ou (2) o segundo evento poderia inativar ou alterar a cópia restante (normal) do gene do retinoblastoma. Se a segunda possibilidade estivesse correta, o segundo evento poderia algumas vezes envolver a perda de um cromossomo ou uma deleção extensa de uma região cromossômica específica que contém o gene do retinoblastoma. Estas perdas cromossômicas em larga escala poderiam ser detectadas com marcadores de DNA localizados no cromossomo que contém o gene do retinoblastoma.

De fato, perdas de marcadores de DNA próximos ao gene do retinoblastoma (*RB1*) no cromossomo 13 ocorrem em mais de 50% dos retinoblastomas. Vários mecanismos, incluindo mutação de ponto, deleção e recombinação somática, podem produzir esta perda (Fig. 11.4). A observação da perda de DNA mostra que o segundo evento, que ocorre no feto durante o período no qual os retinoblastos estão se dividindo e se proliferando rapidamente, removeu o alelo normal restante deste gene. Isto implica que a célula com um alelo *RB1* mutado e um alelo *RB1* normal não pode formar o tumor. Assim, o produto do gene normal, mesmo quando presente em uma única cópia, evita a formação do tumor. O termo **supressor de tumor**

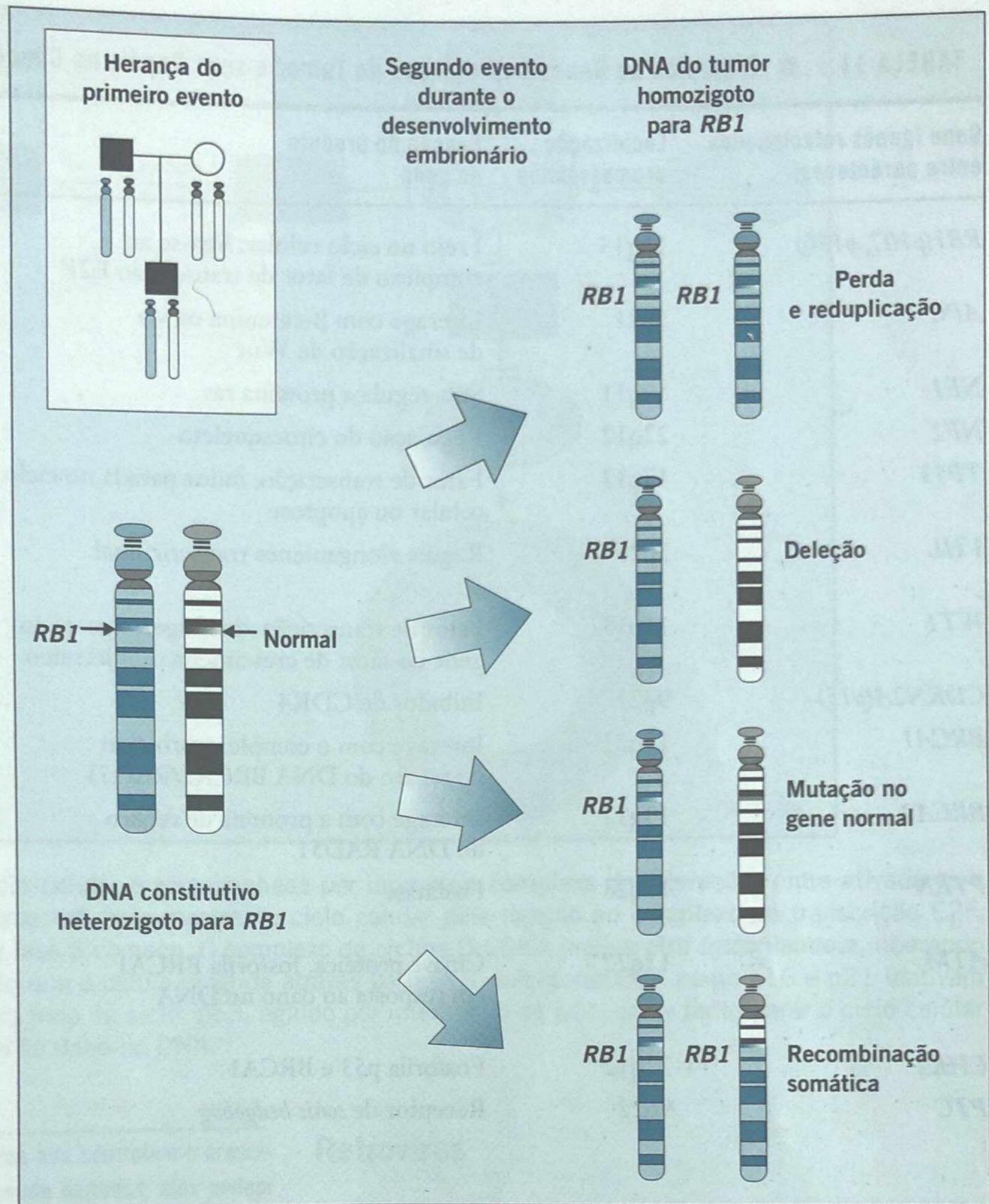
foi cunhado para descrever o gene *RB1* e uma lista crescente de outros genes associados ao câncer que operam por meio deste mecanismo (Tabela 11.1). Até hoje, mais de 20 genes supressores de tumor foram identificados.

Uma característica dos supressores de tumor é o fato por vezes complexo de que mutações herdadas são alelos *dominantes* no nível do indivíduo (i. e., heterozigotos geralmente desenvolvem a doença), mas eles são alelos *recessivos* no nível da célula (células heterozigotas não formam tumores). Esta contradição aparente é resolvida pela percepção de que, em indivíduos que herdaram o primeiro evento, um segundo evento que ocorra em qualquer uma das células vai causar um tumor. Como existem milhares de retinoblastos-alvo no feto em desenvolvimento, indivíduos heterozigotos formam, na média, vários retinoblastos homozigotos para a mutação em *RB1*. Cada uma destas leva ao retinoblastoma. Assim, o que é herdado como um traço autossômico dominante é uma forte *predisposição* genética para a formação de tumor (i. e., o primeiro evento). A penetração reduzida da mutação no retinoblastoma (90%) é explicada pelo fato de que alguns indivíduos que herdam a mutação causadora da doença não experimentam um segundo evento em nenhum de seus retinoblastos.

Uma propriedade geral dos supressores de tumor é que eles normalmente bloqueiam a proliferação celular incontrolada que pode levar ao câncer. Geralmente, isto é feito pela participação nas vias que regulam o ciclo celular. Por exemplo, a proteína codificada por *RB1* (pRb) é ativa quando está relativamente não-fosforilada, mas é sub-regulada quando é fosforilada por uma cinase dependente de ciclina (CDK) imediatamente antes da fase S do ciclo celular (veja o Capítulo 2). No seu estado ativo, hipofosforilada, pRb se liga a membros do complexo de transcrição E2F, inativando-os (Fig. 11.5). A atividade de E2F é necessária para a progressão da fase S; então, sua inativação por pRb paralisa o ciclo celular. A pRb serve, assim, como um "freio" que é normalmente aliviado somente quando pRb é inativada pela fosforilação por CDK. Posteriormente, no ciclo celular, torna-se reativada quando os grupamentos de fosfato são removidos. No entanto, as mutações de perda de função em *RB1*, e em alguns casos hipermetilação de sua região 5', podem levar à inativação permanente. Sem este freio no ciclo celular, a célula progride por meio de inúmeras divisões incontroláveis.

Mutações com perda de função em outros fatores inibitórios também podem levar ao ciclo celular desregulado. Inúmeros genes supressores de tu-

**FIGURA 11.4** ■ Pessoas que herdam uma mutação em *RB1* são heterozigotas para a mutação em todas as células do seu corpo. O segundo “evento” ocorre durante o desenvolvimento embrionário e pode consistir em uma mutação de ponto, uma deleção, perda de um cromossomo normal e duplicação do anormal ou recombinação somática. Cada processo leva à homozigose para o alelo mutante *RB1* e, assim, ao desenvolvimento do tumor (Modificado de Cavenee WK, Dryja TP, Phillips RA, et al. [1983] Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma. Nature 305:779-784.)



mor codificam **inibidores de cinases dependentes de ciclina** (veja Fig. 11.5), que inativam as CDK e, assim, evitam que elas fosforilem as proteínas-alvo tais como pRb. Supressores de tumor também podem controlar a proliferação celular por intermédio de seus efeitos na transcrição ou em interações célula-célula (alguns exemplos serão discutidos mais adiante). Mais uma vez, mutações nestes genes podem levar à divisão celular irrestrita e, finalmente, ao câncer.

■ A descoberta de que o retinoblastoma resulta quando ambos os alelos do mesmo locus no cromossomo 13 são inativados no mesmo retinoblasto levou ao conceito de genes supressores de tumor. Os produtos destes tipos de genes evitam a formação de tumor por meio do controle de crescimento e podem fazer isto mesmo que a célula contenha apenas uma versão normal do gene. Mutações de perda de função que inativam ambas as cópias do gene supressor de tumor podem levar à proliferação celular incontrolada.

Devido ao papel essencial dos supressores de tumor na prevenção da formação do tumor, o seu estudo foi considerado de significância médica. Entendendo como o câncer é naturalmente suprimido pelo corpo, poderemos, ao final, desenvolver terapias médicas mais eficientes para a prevenção e para o tratamento do tumor.

## Oncogenes

Uma segunda categoria de genes que podem causar câncer é denominada **oncogenes** (i. e., “genes de câncer”). A maioria dos genes se origina de **proto-oncogenes**, genes envolvidos em quatro reguladores básicos do crescimento normal da célula mencionados anteriormente (fatores de crescimento, receptores de fatores de crescimento, moléculas transdutoras de sinal e fatores de transcrição nuclear). Quando uma mutação ocorre em um pro-

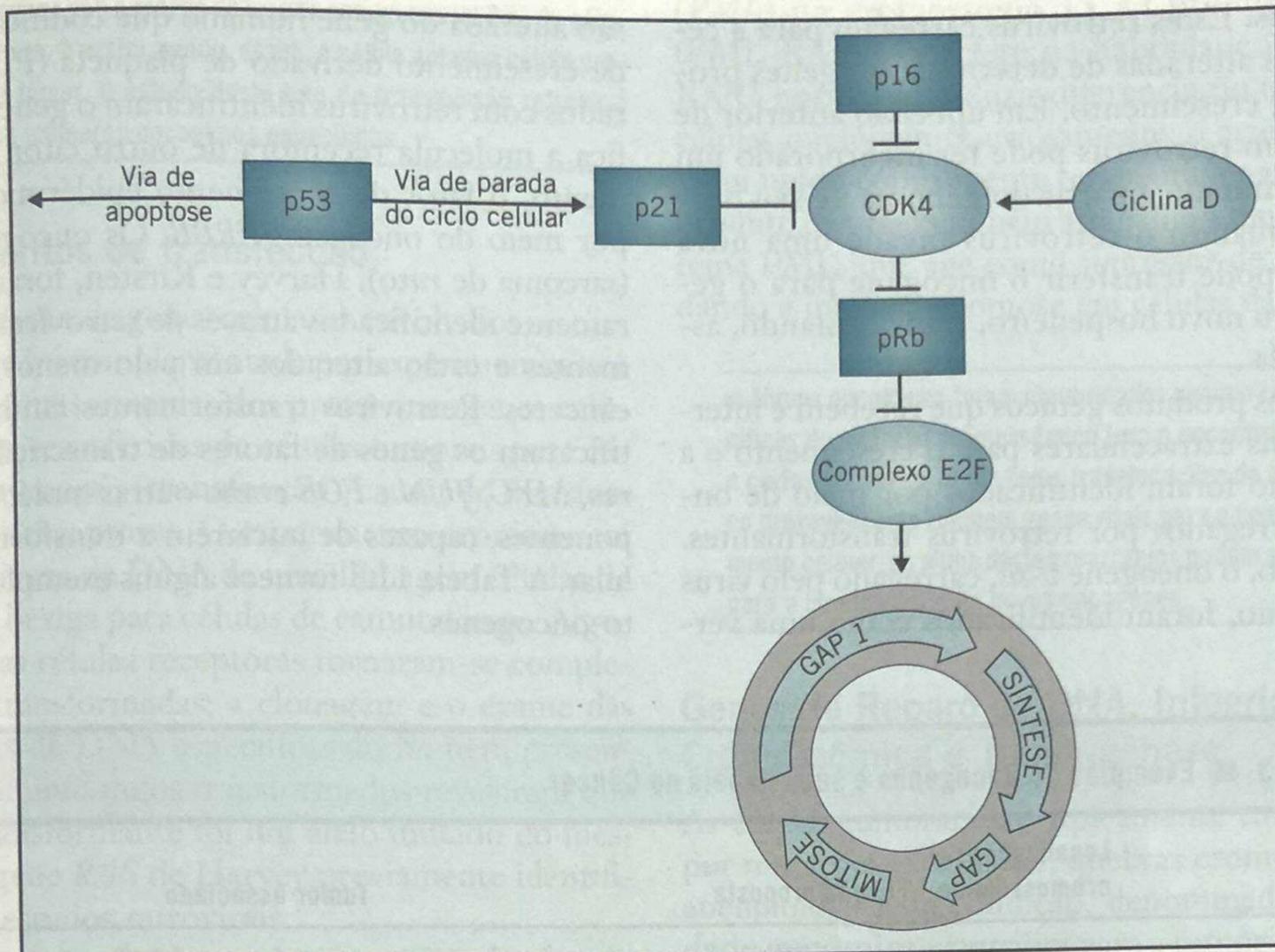
TABELA 11.1 ■ Exemplos de Genes Supressores de Tumor e seus Papéis no Câncer Herdado

Gene (genes relacionados entre parênteses)	Localização cromossômica	Função do produto do gene	Doenças causadas por mutações na linhagem germinativa
<i>RB1</i> ( <i>p107</i> , <i>p130</i> )	13q14	Freio no ciclo celular; liga-se ao complexo de fator de transcrição E2F	Retinoblastoma, osteossarcoma
<i>APC</i>	5q21	Interage com $\beta$ -catenina na via de sinalização de Wnt	Polipose adenomatosa familiar
<i>NF1</i>	17q11	Sub-regula a proteína ras	Neurofibromatose tipo 1
<i>NF2</i>	22q12	Regulação do citoesqueleto	Neurofibromatose tipo 2
<i>TP53</i>	17p13	Fator de transcrição; induz parada no ciclo celular ou apoptose	Síndrome de Li-Fraumeni
<i>VHL</i>	3p25	Regula alongamento transcricional	Doença de von-Hippel Lindau (câncer renal)
<i>WT1</i>	11p13	Fator de transcrição zincfinger; liga-se ao gene do fator de crescimento epidérmico	Tumor de Wilms
<i>CDKN2A</i> ( <i>p15</i> )	9p21	Inibidor de CDK4	Melanoma familiar
<i>BRCA1</i>	17q21	Interage com o complexo protéico de reparo do DNA BRCA2/RAD51	Câncer de mama/ovário familiar
<i>BRCA2</i>	13q12	Interage com a proteína de reparo do DNA RAD51	Câncer de mama familiar
<i>PTEN</i>	10q23	Fosfatase	Síndrome de Cowden (cânceres de mama e de tiróide)
<i>ATM</i>	11q22	Cinase proteica, fosforila BRCA1 em resposta ao dano no DNA	Ataxia-telangiectasia, evidencia conflitante de envolvimento direto no câncer de mama
<i>CHK2</i>	22q12	Fosforila p53 e BRCA1	Síndrome de Li-Fraumeni
<i>PTC</i>	9q22	Receptor de <i>sonic hedgehog</i>	Síndrome de Gorlin (carcinoma de células basais, meduloblastoma)
<i>DPC4</i>	18q21	Transduz sinais do fator $\beta$ transformante de crescimento	Polipose juvenil
<i>MLH1</i>	3p21	Reparo de erro de pareamento no DNA	HNPCC
<i>MSH2</i>	2p22	Reparo de erro de pareamento no DNA	HNPCC

to-oncogene, este pode tornar-se um oncogene, um gene cujo produto constantemente ativo pode levar ao crescimento e à proliferação celular desregulada. Quando uma célula prossegue de crescimento regulado para desregulado, a célula é dita **transformada**.

Ao contrário dos genes supressores de tumor, os oncogenes são geralmente dominantes no nível celular: somente uma única cópia do oncogene mutado é necessária para contribuir para o processo de múltiplos eventos da progressão do tumor. Enquanto os supressores de tumor são tipicamente desabilitados por mutações de perda de função, os oncogenes são tipicamente ativados por mutações de ganho

de função (estas e outras diferenças são resumidas na Tabela 11.2). A maioria dos genes supressores de tumor sabidamente exibe mutações na linhagem germinativa que causam síndromes de câncer herdadas (ex., retinoblastoma, síndrome de Li-Fraumeni). Em contraste, ainda que os oncogenes sejam comumente encontrados em tumores esporádicos, mutações em oncogenes na linhagem germinativa que causam síndromes de câncer herdadas são incomuns (raras exceções serão relacionadas depois nesta discussão). Nesta seção, revisamos três abordagens que foram utilizadas para identificar oncogenes específicos: definição retroviral, experimentos de transfecção e mapeamento de tumores.



**FIGURA 11.5** ■ A regulação do ciclo celular é acompanhada por uma série complexa de interações entre ativadores e repressores do ciclo pRb e age como um freio mestre no ciclo celular pela ligação ao complexo de transcrição E2F, parando o ciclo celular antes que a fase S comece. O complexo de ciclina D-CDK4 inativa pRb fosforilando-a, liberando assim o complexo E2F e permitindo que a célula progrida através da fase S. Inibidores CDK como p16 e p21 inativam CDK, agindo, assim, como um outro freio no ciclo. p53, agindo por intermédio de p21, pode tanto parar o ciclo celular como induzir apoptose em resposta ao dano no DNA.

■ **Proto-oncogenes** codificam produtos que controlam o crescimento e a diferenciação celular. Quando mutados, eles podem tornar-se oncogenes, que causam câncer. A maioria dos oncogenes age por intermédio de mutações dominantes de ganho de função que levam à desregulação do controle do ciclo celular. Em contraste com os genes supressores de tumor, a maioria dos oncogenes não exibe mutações na linhagem germinativa que causam síndromes de câncer herdadas. Ao contrário, mutações somáticas são vistas levando a cânceres esporádicos.

## Retrovírus

**Retrovírus** são um tipo de vírus com RNA capazes de transcrever RNA em DNA utilizando transcriptases reversas. Desta forma, o genoma de RNA do vírus é convertido em DNA, que pode ser inserido no cromossomo da célula hospedeira. Os oncogenes foram primeiramente identificados pelo estudo de retrovírus que causam câncer em siste-

**TABELA 11.2** ■ Comparação de Características-Chave dos Genes Supressores de Tumor e dos Oncogenes

	Genes supressores de tumor	Oncogenes
Função da versão normal	Regula o crescimento e a proliferação celular; pode induzir apoptose	Promove o crescimento e a proliferação celular
Mutação (no nível celular)	Recessivo (ambas as cópias do gene inativadas)	Dominante (uma única cópia do gene mutado)
Efeito da mutação	Perda de função	Ganho de função
Mutação na linhagem germinativa resultando em síndromes de câncer herdadas	Vista na maioria dos genes supressores de tumor	Vista somente em poucos oncogenes

mas animais. Estes retrovírus carregam para a célula versões alteradas de determinados genes promotores de crescimento. Em um ciclo anterior de infecção, um retrovírus pode ter incorporado um oncogene mutado a partir do genoma de seu hospedeiro. Quando o retrovírus invade uma nova célula, ele pode transferir o oncogene para o genoma de seu novo hospedeiro, transformando, assim, a célula.

Inúmeros produtos gênicos que recebem e interpretam sinais extracelulares para o crescimento e a diferenciação foram identificados por meio de oncogenes carregados por retrovírus transformantes. Por exemplo, o oncogene *v-sis*, carregado pelo vírus sarcoma símio, foram identificados como uma ver-

são alterada do gene humano que codifica um fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF). Estudos com retrovírus identificaram o gene que codifica a molécula receptora de outro fator de crescimento, o fator de crescimento epidérmico (EGF), por meio do oncogene *ERBB*. Os oncogenes RAS (sarcoma de rato), Harvey e Kirsten, foram primeiramente identificados através de retrovírus transformantes e estão alterados em pelo menos 25% dos cânceres. Retrovírus transformantes também identificaram os genes de fatores de transcrição nucleares, *MYC*, *JUN* e *FOS* como outras moléculas componentes, capazes de iniciarem a transformação celular. A Tabela 11.3 fornece alguns exemplos de proto-oncogenes.

**TABELA 11.3 ■ Exemplos de Oncogenes e seus Papéis no Câncer**

Oncogene	Localização cromossômica	Função proposta	Tumor associado
<i>Genes de Fatores de Crescimento</i>			
<i>HST</i>	11q13	Fator de crescimento do fibroblasto	Carcinoma de estômago
<i>SIS</i>	22q12	Subunidade $\beta$ do fator de crescimento derivado de plaquetas	Glioma (tumor cerebral)
<i>Genes de receptores de fatores de crescimento</i>			
<i>RET*</i>	10q	Receptor de tirosina cinase	Neoplasia endócrina múltipla; carcinoma de tireóide
<i>ERBB</i>	7p12	Receptor do fator de crescimento epidérmico	Glioblastoma (tumor cerebral); câncer de mama
<i>ERBA</i>	17q11	Receptor de hormônio de crescimento	Leucemia promielocítica aguda
<i>NEU (ERBB2)</i>	17q21	Receptor de cinase proteica	<i>Neuroblastoma</i> ; carcinoma de mama
<i>MET*</i>	7q31	Receptor de cinase proteica	Carcinoma renal papilar hereditário; carcinoma hepatocelular
<i>KIT*</i>	4q12	Receptor de cinase proteica	Síndrome de tumor estromal gastrointestinal
<i>Genes de transdução de sinais</i>			
<i>HRAS</i>	11p15	GTPase	Carcinoma de cólon, pulmão e pâncreas
<i>KRAS</i>	12p12	GTPase	Melanoma; carcinoma de tireóide; leucemia monocítica aguda; carcinoma de cólon
<i>BRAF</i>	7q34	Cinase de serina/treonina	Melanoma maligno; câncer de cólon
<i>ABL</i>	9q34	Cinase proteica	Leucemia mielóide crônica; leucemia linfocítica aguda
<i>CDK4*</i>	12q14	Cinase dependente de ciclina	Melanoma maligno
<i>Genes de fatores de transcrição</i>			
<i>NMYC</i>	2p24	Proteína de ligação a DNA	Neuroblastoma; carcinoma de pulmão
<i>MYB</i>	6q22	Proteína de ligação a DNA	Melanoma maligno, linfoma; leucemia
<i>FOS</i>	14q24	Interage com o oncogene <i>JUN</i> para regular a transcrição	Osteossarcoma

\* *MET*, *RET*, *KIT* e *CDK4* são os quatro proto-oncogenes nos quais mutações na linhagem germinativa podem originar síndromes de câncer herdados.

■ Os retrovírus são capazes de inserir oncogenes no DNA da célula hospedeira, transformando, assim, a célula em uma célula produtora de tumor. O estudo deste tipo de transmissão retroviral identificou inúmeros oncogenes específicos.

## Experimentos de transfecção

A identificação de genes celulares envolvidos na carcinogênese foi complementada por experimentos nos quais as formas mutadas dos proto-oncogenes celulares foram transferidas de células tumorais para células não-tumorais (**transfecção**), causando transformação nos receptores. O experimento protótipo foi a transferência de DNA de uma linhagem celular de câncer de bexiga para células de camundongo. Algumas poucas células receptoras tornaram-se completamente transformadas; a clonagem e o exame das seqüências de DNA específicas do homem presentes nos camundongos transformados revelaram que o gene transformante foi um alelo mutado do mesmo oncogene *RAS* de Harvey previamente identificado por estudos retrovirais.

A caracterização do produto proteico das formas mutantes de *RAS* revelou um importante mecanismo de regulação de transdução de sinais. A proteína *RAS* normalmente reveza entre a forma *ativa* ligada à **guanossina trifosfato (GTP)** e a forma *inativa* ligada à **guanossina difosfato (GDP)**. A consequência bioquímica das mutações em *RAS* é uma proteína *RAS* incapaz de mudar da forma ativa GTP, que estimula o crescimento, para a forma inativa GDP. A proteína *RAS* mutante não pode conter o seu sinal de crescimento.

■ A transfecção de oncogenes de células tumorais para células normais pode causar transformação das células normais. Isto ajuda a confirmar o papel dos oncogenes na carcinogênese.

## Mapeamento em tumores

A associação das translocações cromossômicas com tumores humanos fornece um terceiro método para a observação das funções dos oncogenes. Como discutido no Capítulo 6, rearranjos cromossômicos específicos são característicos de alguns tipos de tumor. Um exemplo bem conhecido é o cromossomo Filadélfia, em que uma translocação entre os cromossomos 9 e 22 ativa o proto-oncogene *ABL* e produz leucemia mielóide crônica. Um exame minucioso da translocação t(15;17)(q22;q11.2-12) característica da leucemia promielocítica aguda (APL) mostrou que a translocação funde dois genes; o gene do receptor alfa do ácido retinóico (*RARα*) no cromossomo 17 e o gene da leucemia promielocítica

(*PML*) no cromossomo 15. O produto da fusão (*PML-RARα*) interfere na habilidade da proteína *RARα* normal de induzir diferenciação terminal das células mielóides. (Curiosamente, o ácido retinóico já foi usado como agente terapêutico para APL.) O produto da fusão também atrapalha a função da proteína *PML*, que age como supressor de tumor, ajudando a iniciar a apoptose em células danificadas.

■ Alguns oncogenes foram identificados quando rearranjos específicos de material cromossômico foram encontrados associados a certos cânceres. Como estas translocações de material genético provavelmente rompem genes vitais para o controle do crescimento celular, os sítios destes rearranjos podem ser investigados para a identificação de novos oncogenes.

## Genes de Reparo de DNA, Integridade Cromossômica e Tumorigênese

As células tumorais são tipicamente caracterizadas por mutações espalhadas, quebras cromossômicas e aneuploidia. Esta condição, denominada **instabilidade genômica**, contribui para a tumorigênese porque mutações e defeitos cromossômicos podem ativar oncogenes ou desativar genes supressores de tumor. Instabilidade genômica pode ocorrer em razão de defeitos nas proteínas necessárias para a divisão celular precisa ou em proteínas responsáveis pelo reparo do DNA. Estes defeitos são, por sua vez, o resultado de mutações. Algumas vezes, estas mutações são herdadas resultando em algumas síndromes raras de câncer herdado. Mais freqüentemente, elas surgem nas células somáticas e contribuem para o câncer comum, não-herdado.

Existem inúmeras maneiras nas quais vários tipos de instabilidade genômica podem levar ao câncer. Alguns cânceres de mama são causados pelo reparo defeituoso de quebras da fita dupla que ocorrem no DNA (ex., da exposição à radiação). Uma forma herdada de câncer de cólon, discutida a seguir, pode resultar de **falha de reparo de pareamento errado** ("mismatch") do DNA (assim chamada porque mutações de uma única base podem levar a uma molécula de DNA na qual os pares de base não são complementares uns aos outros, um "mismatch"). O xeroderma pigmentoso, uma condição herdada caracterizada em parte por tumores múltiplos de pele (veja o Capítulo 3), é o resultado do dano no reparo de excisão de nucleotídeo. Defeitos nas proteínas responsáveis pela separação dos cromossomos durante a mitose (ex., fibras do fuso) podem originar aneuploidias múltiplas tipicamente vistas em células tumorais. A aneuploidia pode contribuir para a tumorigênese pela criação de cópias de oncogenes ou pela deleção de genes supressores de tumor.

■ A instabilidade genômica, que pode resultar de defeitos no reparo do DNA, é frequentemente observada em células tumorais e é caracterizada por mutações espalhadas, quebras cromossômicas e aneuploidia. Estas alterações podem causar câncer quando afetam vias que regulam a proliferação celular.

### Alterações Genéticas e Imortalidade de Células Cancerosas

Mesmo depois que uma célula tumoral tenha escapado da regulação por proteínas supressoras de tumor ou de reparo do DNA, esta deve vencer um obstáculo para a proliferação ilimitada: a limitação intrínseca da célula para o número de divisões celulares permitidas para cada célula. Comumente, uma célula é restringida a cerca de 50 a 70 divisões mitóticas. Depois de alcançar este número, a célula tipicamente se torna **senescente** e não pode continuar a se dividir. Pesquisas recentes forneceram novas percepções dos mecanismos que contam o número de divisões celulares e ilustraram novas maneiras nas quais as células tumorais podem burlar o sistema de contagem.

A cada vez que a célula se divide, os telômeros dos cromossomos se encurtam ligeiramente porque a DNA polimerase não pode replicar as pontas dos cromossomos. Uma vez que o telômero tenha sido reduzido ao tamanho crítico, um sinal é transmitido para tornar a célula senescente. Este processo implicaria limitações severas às células proliferativas em um tumor, evitando uma maior expansão clonal. As células tumorais superam o processo ativando o gene que codifica a **telomerase**, uma transcriptase reversa que substitui os segmentos teloméricos que são normalmente perdidos durante a divisão celular. A ativação desta enzima, raramente presente em células normais mas encontrada em 85% a 90% das células tumorais, é parte de um processo que permite a célula tumoral continuar a se dividir sem o obstáculo do encurtamento do telômero. Esta divisão não inibida permite que o tumor se torne grande e, pela permissão contínua da replicação do DNA, permite o acúmulo de mutações adicionais que podem contribuir mais ainda para a agressividade da célula tumoral.

■ Normalmente, o encurtamento progressivo dos telômeros limita o número de divisões da célula entre 50 e 70. Células tumorais superam esta limitação pela ativação da telomerase, que substitui os segmentos teloméricos que são perdidos durante cada divisão. Isto parece ajudar as células tumorais a escaparem do obstáculo da senescência celular.

### IDENTIFICAÇÃO DE GENES DE CÂNCER HERDADOS

Ainda que os métodos descritos na seção anterior tenham obtido sucesso na identificação de vários oncogenes, eles não identificaram os genes supressores de tumor que causam a maioria das formas herdadas de câncer. Isto pode ter ocorrido porque estes métodos requerem expressão dominante do fenótipo mutante, enquanto os alelos supressores de tumor mutados parecem ter um fenótipo primário recessivo no nível celular. Foi necessária uma abordagem alternativa para a identificação destes genes.

Quando genes responsáveis por doenças transmitidas geneticamente não podem ser identificados por meio de seu comportamento bioquímico, eles se tornam candidatos a investigações baseadas em mapeamento gênico e detecção de mutações em pacientes, como descrito no Capítulo 8. Existem dois caminhos para o mapeamento inicial de genes tumorais. A rota principal e mais geral é pelo mapeamento de ligação nas famílias, no qual o padrão de herança do fenótipo de câncer define a transmissão genética de um alelo alterado. O segmento cromossômico portando esta mutação pode ser identificado pela ligação a marcadores polimórficos.

A segunda base para o mapeamento tira proveito das perdas cromossômicas frequentes associadas a genes supressores de tumor. Como já descrito, a mutação geneticamente transmitida é um alelo recessivo no nível celular; não revela o fenótipo tumoral a menos que ambas as cópias do gene sejam perdidas. Frequentemente, um alelo mutante herdado é desmascarado pela deleção de parte ou todo o cromossomo homólogo que carrega o alelo normal. Conseqüentemente, a observação de que um segmento cromossômico específico está deletado em um tumor sugere uma localização no mapa da mutação herdada. Pequenas deleções podem apontar para a localização subcromossômica do gene a ser encontrado. Como mencionado no Capítulo 8, a detecção de deleções herdadas no cromossomo 13q nos pacientes com retinoblastoma foi um passo importante para o achado do gene do retinoblastoma.

As regiões cromossômicas herdadas em tumores são apontadas pelo exame de uma série de marcadores polimórficos intimamente ligados na região e pela determinação de quais marcadores que são heterozigotos no DNA constitutivo do paciente se tornaram homozigotos no DNA do tumor (quais os marcadores perderam um alelo no processo de tumorigênese). Esta **perda de heterozigose** no DNA do tumor indica que o gene supressor de tumor, assim

como os marcadores polimórficos que o circundam, foi perdido, deixando somente a cópia anormal do gene supressor de tumor (Fig. 11.6; veja Fig. 11.4). Esta abordagem foi utilizada, por exemplo, para apontar a localização do gene do retinoblastoma no braço longo do cromossomo 13 e do gene do tumor de Wilms (nefroblastoma) em 11p.

Ainda que estudos de mapeamento gênico possam freqüentemente definir uma região onde o gene do câncer herdado está localizado, eles não podem sozinho identificar o gene da doença. Como discutido no Capítulo 8, a detecção de mutações situadas no DNA de pacientes com a doença é crucial para a identificação do gene específico causador da doença.

■ Localizações no mapa de genes associados a tumor podem ser detectadas pela análise de ligação ou mostrando-se que um homólogo de um cromossomo (ou parte dele) está faltando no DNA do tumor. A confirmação do papel etiológico do possível gene causador de câncer é obtida mostrando-se a presença consistente de mutações neste gene no DNA de pacientes.

## Neurofibromatose Tipo 1

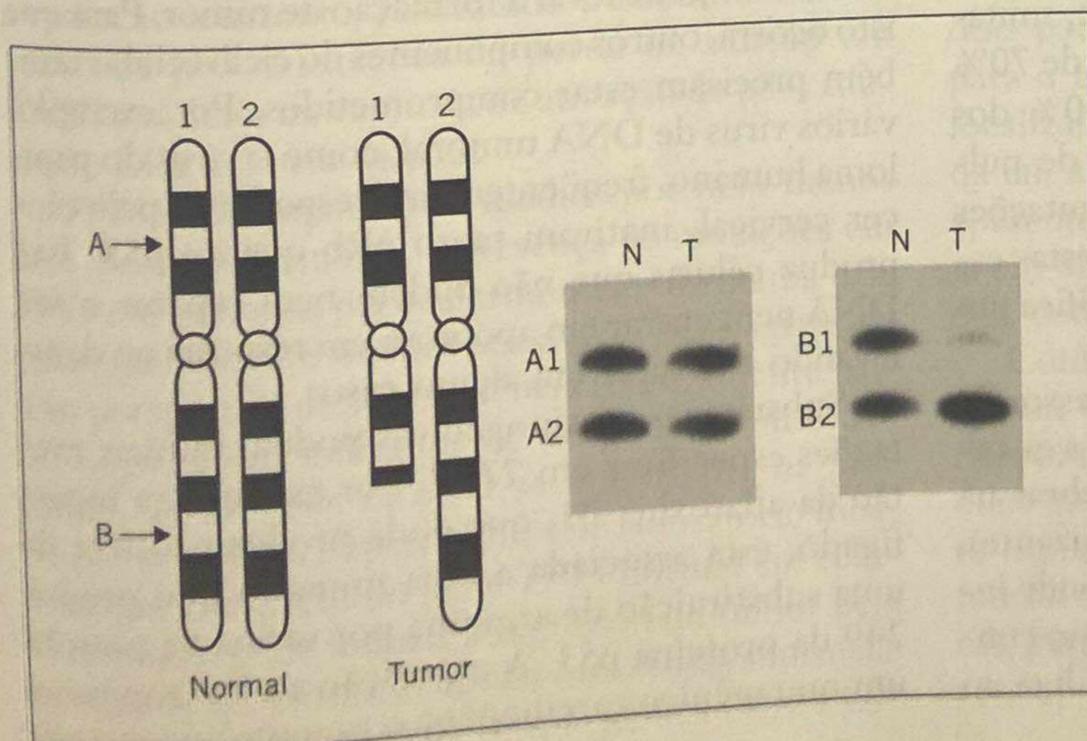
A evidência inicial para o mapeamento do gene da neurofibromatose tipo 1 (*NF1*) no cromossomo 17 veio de estudos de ligação em famílias. Subseqüentemente, translocações cromossômicas foram descobertas nos cariótipos de dois pacientes não relacionadas com neurofibromatose, cada uma tendo um ponto de quebra no cromossomo 17q em uma localização indistinguível da localização do mapa do gene *NF1*. Estas translocações foram supostas como tendo causado neurofibromatose nestes indivíduos pela alteração do gene *NF1*. Distanciados somente por 50 kb, os pontos de quebra forneceram as dicas físicas necessárias para a definição de vários genes can-

didatos que foram rastreados para mutações em pacientes com *NF1* (Fig. 11.7).

A seqüência nucleotídica do gene *NF1* forneceu uma dica inicial de sua função quando sua seqüência prevista de aminoácidos foi comparada com a seqüência de aminoácidos de produtos gênicos encontrados em bancos de dados computacionais. Várias semelhanças foram encontradas com uma proteína ativadora de GTPase (GAP). Este foi um achado importante, porque pelo menos uma função de GAP consiste em diminuir a quantidade de RAS ativa, ligada a GTP. Como mencionado anteriormente, a proteína RAS é um componente-chave na via de transdução de sinal, transmitindo sinais positivos de crescimento em sua forma ativa. O produto gênico intimamente associado *NF1*, a neurofibromina, também representa um papel na transdução de sinal sub-regulando RAS.

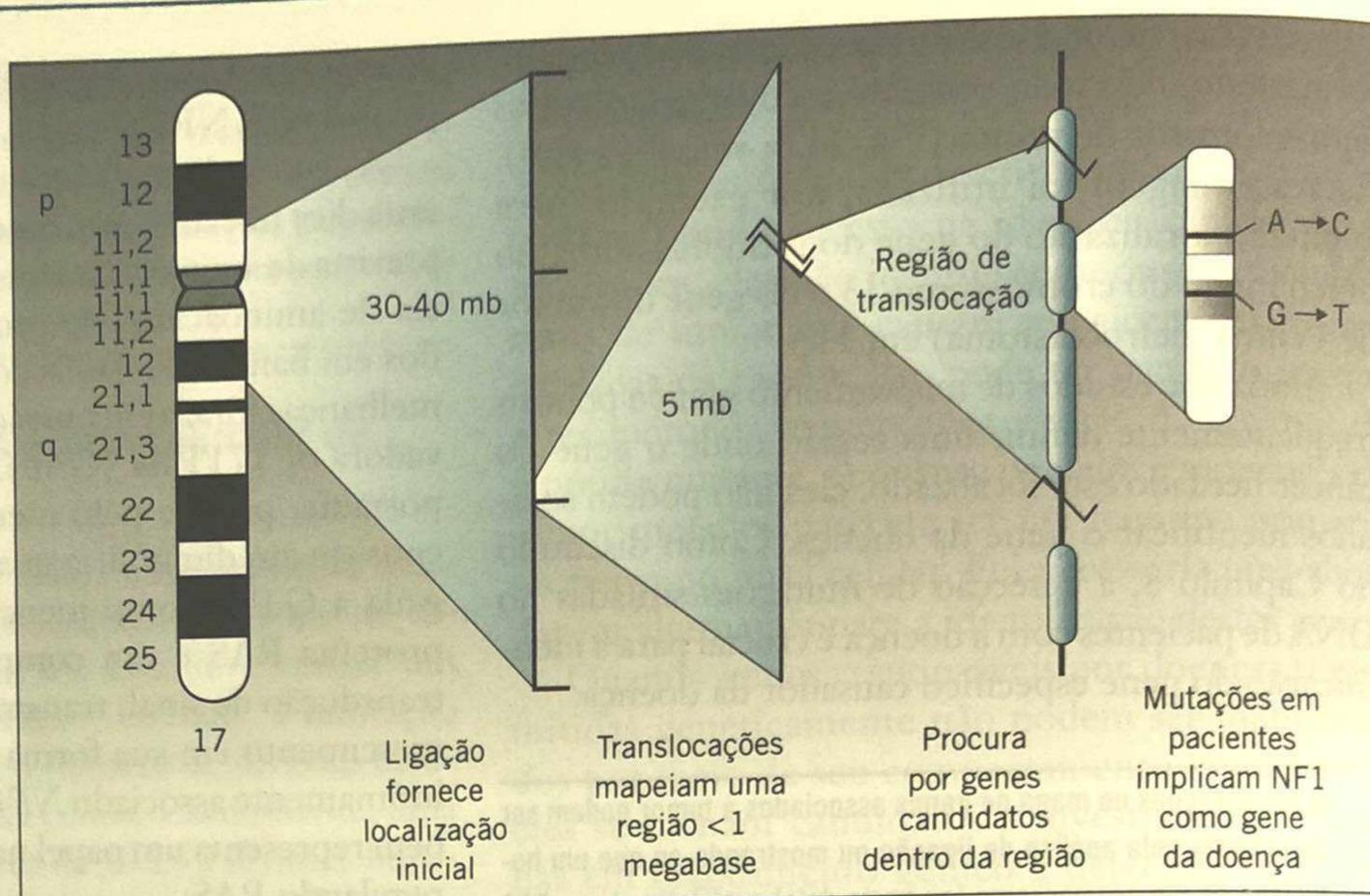
Com a identificação do produto do gene *NF1* como um componente da transdução de sinal, começou a se formar um quadro de como a herança de uma mutação em um alelo *NF1* podia contribuir para o desenvolvimento de neurofibromas e manchas *café-au-lait*. A expressão reduzida do gene *NF1* permite a atividade elevada de RAS e deixa que a célula escape da diferenciação e continue seu crescimento. A perda do alelo restante encoraja ainda mais o crescimento. A descoberta do gene *NF1* levou à identificação de um supressor de tumor-chave que ajuda a regular o processo fundamental de transdução de sinal. [www](http://www)

■ O gene responsável por *NF1* foi mapeado no cromossomo 17q por ligação em famílias, e foi identificado através de translocações e mutações de ponto em pacientes. O seqüenciamento do DNA do gene previu um produto proteico com um domínio relacionado a GAP, e um papel similar na sub-regulação da proteína de transdução de sinal RAS foi confirmada por experimentos bioquímicos.



**FIGURA 11.6** ■ A e B representam dois polimorfismos de microssatélites que foram testados usando DNA de células normais de um paciente com câncer (N) e de células tumorais (T). Em células normais, o paciente é heterozigoto para ambos os loci marcadores. A deleção do braço longo de um de seus cromossomos pareados resulta em perda de heterozigose (LOH) para o locus B (i. e., a banda correspondente ao alelo B1 está faltando, somente com um sinal fraco devido a traços de células normais no espécime de tumor). LOH é um sinalizador de que o gene supressor de tumor está perto do locus deletado (Cortesia de Dr. Dan Fults, University of Utah Health Sciences Center.)

**FIGURA 11.7** ■ A localização do gene *NF1* no cromossomo 17q envolveu análise de ligação e identificação de dois pontos de quebras de translocações que interromperam o gene da doença. Genes candidatos foram isolados desta região e testados para mutações em paciente com *NF1* e em controles normais.



### Gene *TP53*

Mutações somáticas no gene *TP53* foram encontradas em mais da metade de todos os tumores humanos, tornando-o o gene de câncer mais comumente alterado. Mutações no gene *TP53* ocorrem em mais de 50 tipos de câncer diferentes, incluindo os de bexiga, cérebro, mamas, cérvix, cólon, esôfago, laringe, fígado, pulmão, ovário, pâncreas, próstata, pele, estômago e tireóide.

Inicialmente, perdas e deleções cromossômicas do braço curto do cromossomo 17 foram mostradas como sendo características de carcinoma de cólon. Deleções sobrepostas definiram um segmento de 17p que era comumente alterado no DNA dos tumores. O exame dos genes que haviam sido mapeados nesta região revelaram que *TP53* estava entre eles. Inúmeras mutações encontradas em *TP53* em tumores colônicos indicam um papel significativo para este gene na tumorigênese de cólon. Realmente, mutações somáticas em *TP53* são vistas em cerca de 70% dos tumores colorretais, assim como em 40% dos tumores de mama e em 60% dos tumores de pulmão. Aproximadamente 80% a 90% das mutações em *TP53* são do tipo de sentido trocado, e estas estão concentradas na porção do gene que codifica um domínio de ligação a DNA.

Como *RB1* e *NF1*, *TP53* é um gene supressor de tumor. O seu produto proteico, p53 aumenta a quantidade de resposta ao dano celular (ex., quebras na fita dupla do DNA causadas por radiação ionizante). Agindo como um fator de transcrição, p53 pode interagir com vários outros genes que ajudam no controle do ciclo celular. Por exemplo, p53 se liga ao

promotor de *CDKN1A*, cujo produto proteico, p21, é um inibidor de CDK que bloqueia a inativação de pRb por CDK4 (veja a Fig. 11.5). Como discutido anteriormente, isto pára o ciclo celular na fase G1, antes que a replicação do DNA ocorra na fase S. A parada do ciclo celular antes da fase S fornece tempo para o reparo do DNA danificado. Se o DNA da célula for severamente danificado, p53 pode, ao contrário, induzir a morte celular programada (**apoptose**). Esta resposta é mais provável se a via pRb de parada do ciclo celular não estiver intacta. Na ausência da possibilidade de parada do ciclo celular para reparo do dano, a proteína p53 “escolhe” a morte celular pela interação com genes envolvidos nas vias apoptóticas (ex., *PTEN*, *BAX*).

Quando *TP53* está mutado, as células com DNA danificado podem evitar tanto o reparo quanto a destruição, e a continuação da replicação do DNA danificado pode levar à formação de tumor. Para que isto ocorra, outros componentes do ciclo celular também precisam estar comprometidos. Por exemplo, vários vírus de DNA tumoral, como o vírus do papiloma humano, frequentemente responsável pelo câncer cervical, inativam tanto pRb quanto p53. Isto produz células que não podem nem reparar o seu DNA nem entrar em apoptose em resposta ao dano, levando ao câncer em alguns casos.

Substâncias carcinogênicas podem induzir mutações específicas em *TP53*. Por exemplo, a ingestão da aflatoxina B1, que pode produzir câncer de fígado, está associada a uma mutação que produz uma substituição de arginina por serina na posição 249 da proteína p53. A exposição ao benzopireno, um mutagênico carcinogênico potente encontrado

em fumaça de cigarro, leva a alterações de pares de bases específicos em *TP53* em cânceres de pulmão. Isto demonstra uma ligação molecular direta entre o fumo e o câncer de pulmão. Assim, o exame do tipo de mutação em *TP53* visto em um tumor pode fornecer dicas da identidade do agente carcinogênico causador.

Ainda que mutações causadoras de tumor em *TP53* tenham sido observadas, na maioria das vezes em células somáticas, mutações na linhagem germinativa de *TP53* são responsáveis por uma condição de câncer herdado conhecida como síndrome de Li-Fraumeni (LFS). Esta síndrome rara é transmitida de maneira autossômica dominante e envolve carcinomas de mama e de cólon, sarcomas de tecidos moles, osteossarcomas, tumores de cérebro, leucemia e carcinomas adrenocorticais. Estes tumores geralmente se desenvolvem em idades precoces de membros de famílias LFS, e múltiplos tumores primários são comumente vistos em indivíduos afetados. A demonstração de mutações consistentes em *TP53* no DNA constitutivo de pacientes com LFS confirmou o papel causador deste gene. Como no retinoblastoma, a herança de gene *TP53* mutado aumenta enormemente a susceptibilidade de um indivíduo para a transformação celular subsequente e o desenvolvimento de tumor quando a célula perde a outra cópia normal de *TP53* (modelo de dois eventos). Entre os membros das famílias LFS que herdam um gene *TP53* anormal, aproximadamente 50% vão desenvolver câncer invasivo aos 30 anos de idade e mais de 90% vão desenvolver câncer invasivo aos 70 anos.

Mutações em *TP53* são responsáveis somente por 75% dos casos de LFS. Alguns dos casos restantes são resultados de mutações em outro gene supressor de tumor, *CHK2*. Este gene codifica uma cinase que normalmente fosforila p53 em resposta à radiação ionizante, resultando no acúmulo e ativação de p53. Mutações de perda de função em *CHK2* resultam na ausência de ativação de p53, causando LFS pela via de p53.

*TP53* é de importância médica por pelo menos dois motivos. Primeiro, a presença de mutações em *TP53* em tumores, particularmente os de mama e de cólon, geralmente sinaliza um câncer mais agressivo com perspectiva de sobrevivência relativamente baixa. Logo, é um indicador de prognóstico útil. Segundo, *TP53* pode mostrar-se importante na prevenção do tumor. Experimentos de laboratório mostram que a inserção do gene *TP53* normal em células tumorais pode induzir a regressão do tumor pela indução de apoptose nas células cancerosas anormais. Isto levou a protocolos de terapia gênica (veja o Ca-

pítulo 13) em que cópias de *TP53* normais são inseridas em tumores em um esforço para eliminar células cancerosas.

---

■ Mutações somáticas no gene *TP53* são encontradas em mais de 50% dos tumores. Este gene codifica um fator de transcrição que tanto pode induzir a parada do ciclo celular como a apoptose em resposta ao dano no DNA. Mutações herdadas em *TP53* podem causar a síndrome de Li-Fraumeni.

---

## Gene da Polipose Adenomatosa Familiar (APC)

O câncer de cólon afeta aproximadamente 1 em cada 20 norte-americanos e se agrupa em famílias. Uma pequena proporção dos casos de câncer de cólon é herdada como síndromes autossômicas dominantes. As duas síndromes mais importantes são discutidas a seguir.

A polipose adenomatosa familiar (FAP), também chamada de cólon poliposo adenomatoso (APC), é caracterizada pelo aparecimento inicial de adenomas múltiplos, ou pólipos, no cólon. Os adenomas colônicos são entendidos hoje em dia como sendo precursores imediatos do câncer de cólon. Adenomas múltiplos do paciente com FAP, conseqüentemente, apresentam risco grave de se tornarem malignos precocemente. Como a detecção e a remoção iniciais dos pólipos adenomatosos podem reduzir significativamente a ocorrência de câncer de cólon, é importante compreender o gene causador e seu papel no desenvolvimento dos pólipos (Comentário Clínico 11.1).

O gene responsável pela FAP foi inicialmente localizado no mapa do braço longo do cromossomo 5 por análise de ligação em famílias depois que uma deleção cromossômica visível em um paciente com esta síndrome forneceu uma dica de sua localização. A descoberta de pequenas deleções sobrepostas em dois pacientes não-relacionados forneceu a chave para o isolamento do gene. Entre os genes que se localizam dentro de região de 100 kb que foi deletada em ambos os pacientes, uma mostrou mutações aparentes em outros pacientes. Esta mutação foi vista em um paciente, mas não em seus pais não-afetados, confirmando a identificação do gene *APC*.

Como *RBI* e *TP53*, *APC* é um gene supressor de tumor, e ambas as suas cópias precisam ser inativadas para que a progressão do tumor comece. Indivíduos que herdam uma mutação em *APC* tipicamente experimentam mutações somáticas de perda de função em centenas de suas células epiteliais colônicas, gerando os adenomas múltiplos. Em alguns casos, a perda de função de *APC* ocorre em decorrên-

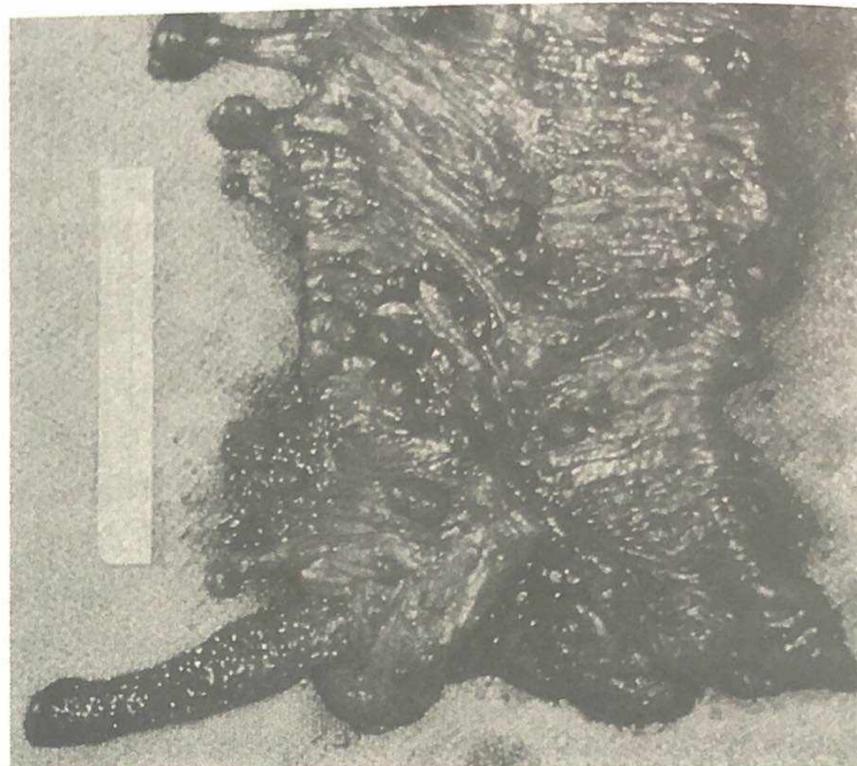
## COMENTÁRIO CLÍNICO 11.1

*Gene APC e Câncer Colorretal*

Cerca de 1 em cada 20 americanos vai ser diagnosticado com câncer colorretal. Hoje em dia, a taxa de mortalidade para este câncer é aproximadamente de um terço. Fatores genéticos e ambientais, como ingestão de gordura e fibras, conhecidamente influenciam a probabilidade de ocorrência de câncer colorretal.

Como indicado no texto, a polipose adenomatosa familiar (FAP), também chamada de polipose adenomatosa (APC) é um subtipo autossômico dominante de câncer de cólon que é caracterizado por um grande número de pólipos adenomatosos (Fig. 11.8). Estes pólipos tipicamente se desenvolvem durante a segunda década de vida e chegam a centenas ou mais (a polipose é definida pela presença de mais de 100 pólipos). Mutações na linhagem germinativa do gene *APC* são consistentemente identificadas em membros de famílias afetadas com FAP. Cerca de um terço destes casos é resultado de novas mutações neste gene. Devido ao grande tamanho deste gene e ao grande número de mutações causadoras da doença, é difícil e caro testar os membros das famílias para mutações germinativas a fim de determinar se eles herdaram ou não o gene da doença. No entanto, um teste é vantajoso justamente porque a maioria das mutações em *APC* é de mutações sem sentido ou de alteração da matriz de leitura que geram um produto proteico truncado. Este **teste de proteína truncada** (veja o Capítulo 3) envolve a produção *in vitro* do produto proteico do gene *APC* para determinar se o indivíduo herdou a mutação *APC*. Este teste é importante para os membros das famílias porque os alerta da necessidade de vigilância freqüente e possível colectomia.

A FAP, entretanto, é relativamente rara, afetando somente 1 em 8.000 indivíduos. A significância mais ampla do gene *APC* deriva do fato de que mutações somáticas neste gene são vistas em aproximadamente 85% de todos os cânceres de cólon. Mais ainda, mutações em *APC* ocorrem muito precocemente no desenvolvimento da malignidade colorretal. Uma melhor compreensão do produto do gene *APC*, como ele interage com outras proteínas e como ele interage com os fatores do meio ambiente como a dieta, pode fornecer dicas importantes para a prevenção e o tratamento do câncer de cólon comum. Desta forma, o mapeamento e a clonagem do gene responsável por uma síndrome de câncer relativamente rara podem ter amplas implicações clínicas. [www](http://www)



**FIGURA 11.8** ■ Porção de cólon removido de um paciente com FAP, ilustrando um grande número de pólipos adenomatosos cobrindo o cólon. Cada uma destas neoplasias benignas apresenta o potencial de tornarem-se um tumor maligno.

Mutações no gene *APC* também podem produzir uma síndrome relacionada, denominada polipose adenomatosa familiar atenuada. Esta síndrome difere de FAP, pois os pacientes têm menos de 100 pólipos (tipicamente de 10 a 20). Existe evidência de que mutações na região 5' de *APC* mais provavelmente produzam a FAP atenuada.

O tratamento do câncer colorretal geralmente envolve ressecção cirúrgica do cólon. No entanto, como o carcinoma colorretal é precedido pelo aparecimento de pólipos benignos, é um dos tipos de cânceres mais evitáveis. O National Polyp Study Workgroup estima que a remoção colonoscópica dos pólipos pode reduzir a incidência de câncer de cólon nos Estados Unidos em até 90%. A importância da intervenção e do tratamento precoces estimula ainda mais a necessidade de entendimento dos eventos iniciais do câncer colorretal, como mutações somáticas no gene *APC*.

Como os pólipos geralmente começam a aparecer na segunda década de vida naqueles que herdam uma mutação em *APC*, uma colonoscopia anual é recomendada nestes indivíduos a partir dos 12 anos de idade. A colectomia é freqüentemente necessária aos 20 anos de idade. Existem evidências de que o uso de drogas antiinflamatórias não esteróides causem algum grau de regressão do pólipo.

cia da hipermetilação de sua região promotora, que resulta em transcrição reduzida (Capítulo 3).

Enquanto a identificação do gene *APC* foi importante no diagnóstico e no tratamento do câncer de cólon em famílias com FAP (veja o Comentário Clínico 11.1), a importância deste achado é magnificada pelo fato de que mutações em *APC* são encontradas em 85% de *todos* os tumores de cólon esporádicos (não-herdadas). Mutações somáticas em *APC* (aquelas que desabilitam ambas as cópias do gene em uma célula colônica) estão entre as primeiras alterações nas células que originam o câncer de cólon. Entretanto, mutações em *APC* não são suficientes para sozinhas completarem a progressão para a metástase. Como mostrado na Fig. 11.9, outros genes também podem estar alterados. Por exemplo, mutações de ganho de função são vistas no gene *KRAS* em aproximadamente 50% dos tumores de cólon. Como mencionado anteriormente, este gene codifica uma molécula transdutora de sinal, e uma mutação de ganho de função aumenta a sinalização e, assim, a proliferação celular. Mutações de perda de função no gene *TP53* são vistas em mais de 50% dos tumores de cólon e geralmente ocorrem relativamente tardiamente na via do câncer. Comumente p53 ativaria a resposta a mu-

tações como aquelas em *APC* e *KRAS*, levando ao reparo ou à apoptose. Células que não possuem atividade de p53 são livres para continuarem a caminho de se tornarem malignas a despeito de seu DNA danificado. Um outro gene supressor de tumor, denominado *SMAD4*, ainda parece também estar mutado na via de câncer de cólon. Assim, pelo menos sete mutações são necessárias para produzir um tumor de cólon (duas em cada um dos três genes supressores de tumor, assim como uma mutação dominante de ganho de função em *KRAS* ou em outro gene de transdução de sinal).

Estudos em larga escala revelaram pelo menos três formas de como a proteína APC age como supressora de tumor. Talvez a mais importante seja que ela sub-regula a  $\beta$ -catenina, uma molécula-chave na via de transdução de sinal de Wnt. Entre outras coisas, esta via está envolvida na ativação do fator de transcrição MYC. Reduzindo os níveis de  $\beta$ -catenina, a APC interrompe sinais que levam à proliferação celular. Exames dos carcinomas de cólon que não possuem mutações em *APC* revelaram que alguns deles têm mutações de ganho de função no gene  $\beta$ -catenina, confirmando assim o papel etiológico potencial deste gene no câncer de cólon. Acredita-se também que mutações em APC afetem as proprie-

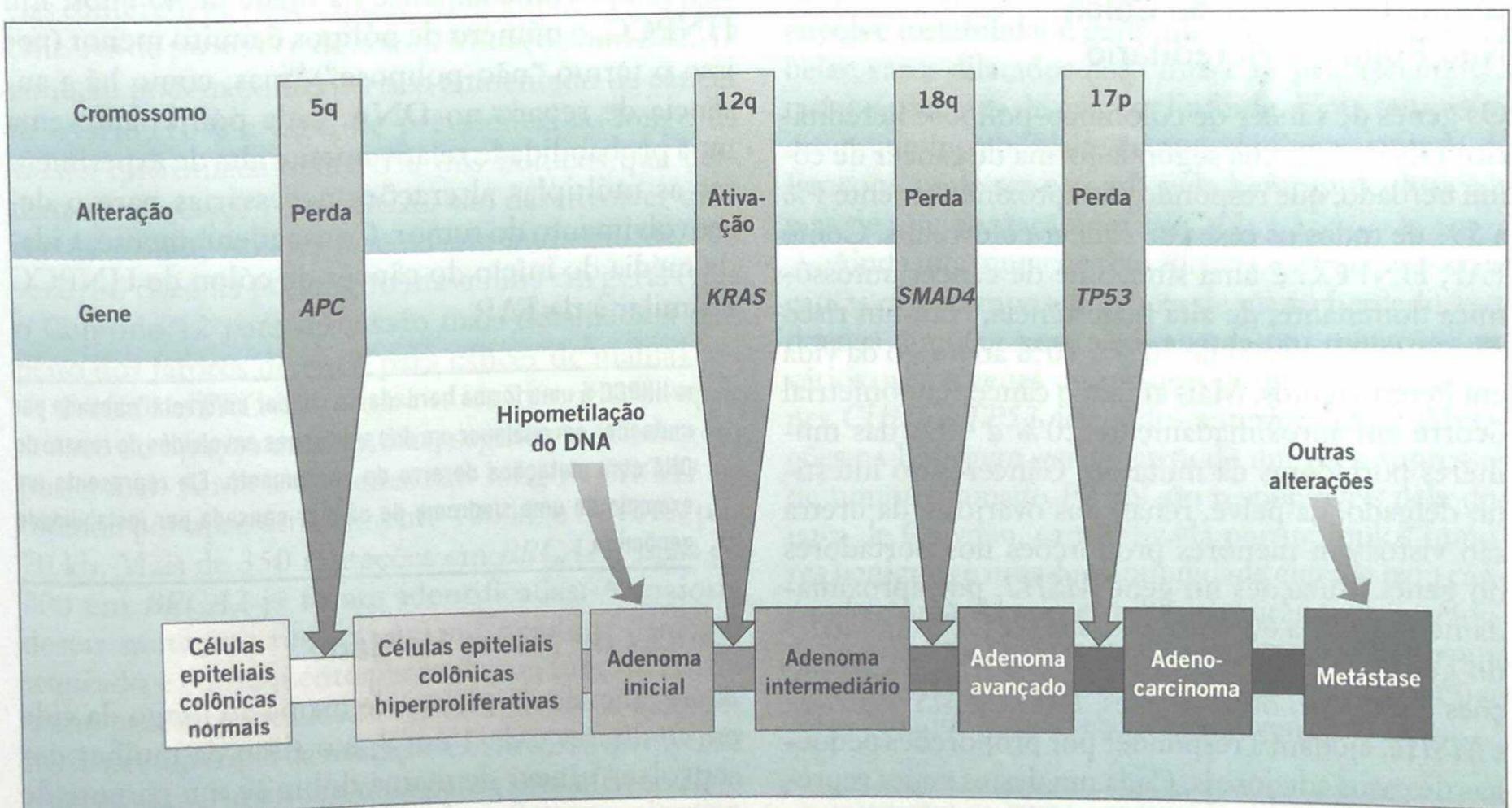


FIGURA 11.9 ■ Via de câncer de cólon. Perda do gene *APC* transforma o tecido epitelial normal que reveste o estômago em tecido hiperproliferativo. A hipometilação do DNA, a ativação do proto-oncogene *KRAS* e a perda do gene *SMAD4* estão envolvidas na progressão para um adenoma benigno. A perda de *TP53* e outras alterações estão envolvidas na progressão para o carcinoma maligno e metástase. Note que estas alterações estão presentes em frequências variadas nas células de tumor de cólon (Modificado de Vogelstein B, Kinzler KW [1993] The multistep nature of câncer. *Trends Genet* 9:138-141.)

dades de adesão célula-célula e célula-matriz (isto é importante porque a alteração no controle de adesão celular permite que a célula invada outros tecidos e metastatize para outros locais). Mais uma vez, esta atividade é mediada pela  $\beta$ -catenina, que interage com uma molécula de superfície celular (E-caderina) cuja perda de função leva a propriedades de adesão celular anormais. Finalmente, mostrou-se recentemente que APC é expressa nos microtúbulos que separam os cromossomos durante a meiose (Capítulo 2). Alterações em APC resultam em atividade alterada dos microtúbulos, de modo que aneuploidias e quebras cromossômicas surgem durante a mitose. Assim, mutações em APC também originam instabilidade genômica.

---

■ O gene da polipose adenomatosa (APC), que predispõe fortemente ao câncer de cólon, foi identificado pelas mutações em pacientes. APC também está envolvido na grande maioria de casos esporádicos de câncer de cólon e é, na realidade, uma das alterações iniciais que levam à tumorigênese de cólon. Este gene supressor de tumor foi mostrado como funcionando como um regulador principal da via de transdução de sinal de Wnt por meio de sua interação com  $\beta$ -catenina. Também está envolvido no controle da adesão celular e na manutenção da estabilidade cromossômica durante a mitose.

---

## Genes de Câncer de Cólon Não-Polipose Hereditário

Os genes de câncer de cólon não-polipose hereditário (HNPCC), uma segunda forma de câncer de cólon herdado, que responde por aproximadamente 1% a 5% de todos os casos de câncer colorretais. Como FAP, HNPCC é uma síndrome de câncer autossômica dominante, de alta penetrância, com um risco de câncer colorretal de 70% a 90% ao longo da vida em heterozigotos. Mais ainda, o câncer endometrial ocorre em aproximadamente 20% a 40% das mulheres portadoras da mutação. Cânceres do intestino delgado, da pelve, renal, dos ovários e da uretra são vistos em menores proporções nos portadores do gene. Mutações no gene *MSH2*, por aproximadamente 40% a 60% dos casos HNPCC e mutações no gene *MLH1*, por 25% a 30% dos casos. Mutações em quatro outros genes, *PMS1*, *PMS2*, *MLH3* e *MSH6*, ajudam a responder por proporções pequenas de casos adicionais. Cada um destes genes representa conhecidamente um papel importante no reparo do DNA com mutações de erro de pareamento (uma importante dica para sua identificação foi a existência de genes de reparo de DNA altamente semelhantes em levedura e bactérias). A inativação de ambos os alelos de cada um destes genes aumenta

a taxa de mutação no genoma em uma célula afetada em até 1.000 vezes.

Esta taxa de mutação aumentada resulta em inúmeras alterações nos genes regulatórios celulares, levando, assim, a um aumento na frequência de câncer. Uma característica típica de tumores em pacientes HNPCC é o alto grau de instabilidade dos loci de microssatélites (veja o Capítulo 3), que gera vários novos alelos de microssatélites. Esta instabilidade de microssatélites também é vista em mais ou menos 15% dos carcinomas colorretais esporádicos, mas mutações somáticas de perda de função nos genes HNPCC parecem ocorrer com pouca frequência nestes tumores. Ao contrário, a alteração mais comum vista nestes tumores esporádicos é a hipermetilação do gene *MLH1*, resultando em sua inativação.

A comparação de FAP com HNPCC revela diferenças interessantes na maneira como cada síndrome leva ao câncer de cólon. Em FAP, uma mutação herdada em APC resulta em um grande número de pólipos, cada qual apresenta baixa probabilidade de adquirir todas as outras alterações genéticas necessárias para a progressão do câncer metastático. Todavia, como o número de pólipos é grande, existe uma alta probabilidade (quase 100%) de que pelo menos 1 deles produza um tumor canceroso aproximadamente na idade de 45 anos. Em HNPCC, o número de pólipos é muito menor (por isso o termo “não-polipose”), mas, como há a ausência de reparo no DNA, cada pólipo apresenta uma probabilidade relativamente alta de experimentar as múltiplas alterações necessárias para o desenvolvimento do tumor. Conseqüentemente, a idade média do início do câncer de cólon de HNPCC é similar à da FAP.

---

■ HNPCC é uma forma herdada de câncer colorretal causada por mutações em qualquer um dos seis genes envolvidos no reparo do DNA com mutações de erro de pareamento. Ela representa um exemplo de uma síndrome de câncer causada por instabilidade genômica.

---

## Câncer de Mama Herdado

A prevalência do câncer de mama ao longo da vida em mulheres é de 1 em 8, e o risco da mulher desenvolver câncer de mama dobra se um parente de primeiro grau for afetado. Dois genes, *BRCA1* e *BRCA2*, foram identificados como contribuidores principais do câncer de mama herdado. Esta seção aponta três questões críticas referentes a estes genes: (1) Qual a proporção dos casos de câncer de mama que são o resultado de mutações em *BRCA1*

e em *BRCA2*? (2) Entre aqueles que herdaram uma mutação, qual o risco de desenvolver câncer? (3) Como mutações nestes genes contribuem para a susceptibilidade ao câncer?

A maioria dos estudos fundamentados em populações mostrou que somente uma pequena porcentagem de todos os cânceres de mama – cerca de 1% a 3% – pode ser atribuída a mutações herdadas em *BRCA1* ou *BRCA2*. Entre as mulheres com câncer de mama que também possuem um histórico familiar positivo para a doença, a porcentagem com mutações herdadas em algum destes genes é de aproximadamente 20%. Entre as mulheres afetadas que possuem histórico familiar positivo para câncer de mama e de ovário, 60% a 80% herdaram mutações em *BRCA1* e *BRCA2*. Mutações herdadas nestes genes também são comuns entre mulheres com câncer de mama de início precoce.

Mulheres que herdaram uma mutação em *BRCA1* ou *BRCA2* experimentam um risco ao longo da vida de 50% a 80% de desenvolverem câncer de mama. O extremo superior desta estimativa de risco reflete estudos que focalizaram famílias de alto risco com múltiplos membros afetados e pode, assim, estar de alguma forma inflado. Mutações em *BRCA1* também aumentam o risco de câncer de ovário entre as mulheres (20% a 50% de risco ao longo da vida) e elas conferem um risco moderadamente elevado para cânceres de próstata e de cólon. Mutações em *BRCA2* também podem conferir risco aumentado de câncer de ovário (10% a 20% de prevalência ao longo da vida). Aproximadamente 6% dos homens que herdaram uma mutação em *BRCA2* vão desenvolver câncer de mama; isto representa um aumento de 100 vezes no risco da população masculina em geral (veja o Capítulo 12 para discussão mais detalhada a respeito dos fatores de risco para câncer de mama).

*BRCA1* e *BRCA2* foram ambos identificados por análise de ligação em famílias, seguida de clonagem posicional. Ambos os genes são longos: *BRCA1* se estende por aproximadamente 100 kb e *BRCA2*, por 70 kb. Mais de 350 mutações em *BRCA1* e mais de 200 em *BRCA2* já foram identificadas. A maioria destas mutações resulta em um produto proteico truncado e conseqüente perda de sua função. Assim como para os genes *RBI* e *APC*, indivíduos afetados herdaram uma cópia da mutação em *BRCA1* ou *BRCA2* e depois experimentam uma perda somática do alelo restante normal em uma ou mais células (seguindo o modelo de dois eventos para genes supressores de tumor). Em contraste com *RBI* e *APC*, mutações somáticas afetando estes genes são raramente vistas em tumores de mama esporádicos (não-herdados). O grande tamanho destes genes, em adição à sua

enorme heterogeneidade alélica, cria desafios para o diagnóstico genético (veja o Capítulo 13). [www](#)

Ainda que *BRCA1* e *BRCA2* compartilhem pouca similaridade de DNA, ambos participam no processo de reparo do DNA. O produto proteico de *BRCA1* é fosforilado (e assim ativado) pelas cinases ATM e CHK2 em resposta ao dano no DNA (Fig. 11.10). O produto proteico de *BRCA1* se liga ao produto proteico de *BRCA2*, que, por sua vez, liga-se a RAD51, uma proteína envolvida no reparo de quebras da fita dupla do DNA (como os genes HNPCC, RAD51 tem homólogos em levedura e bactéria). Ambos os genes participam assim em uma via importante de reparo no DNA e sua inativação resulta em reparo de DNA incorreto e instabilidade genômica. Em adição a seus papéis na via de RAD51, *BRCA1* e *BRCA2* ajudam a suprimir a formação de tumor por intermédio de suas interações com proteínas anteriormente mencionadas, como p53, pRb e Myc.

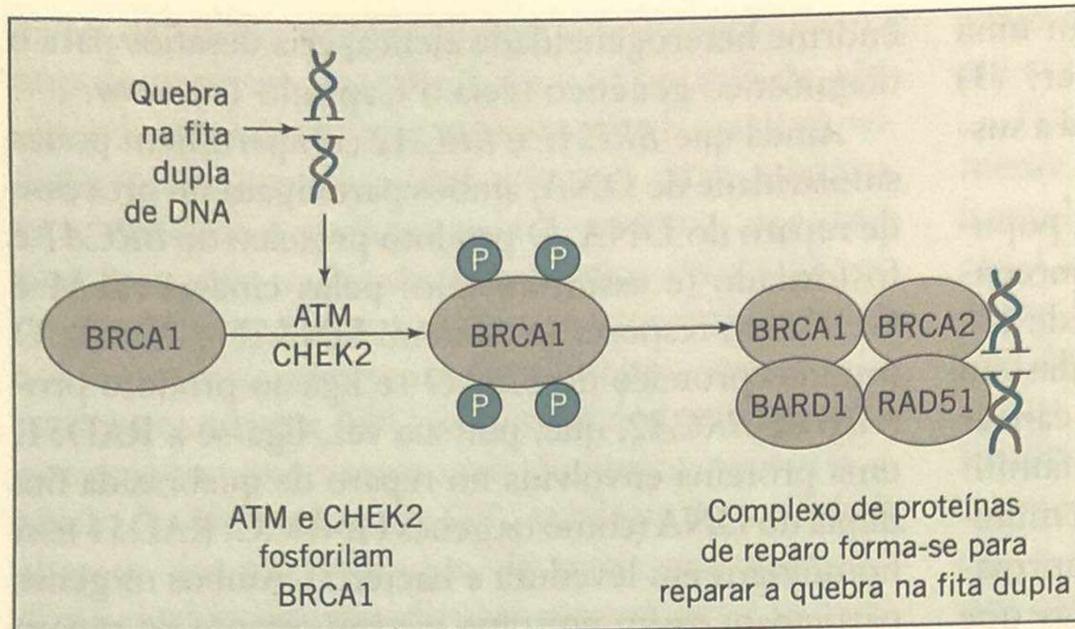
Como todos os genes ilustrados na Fig. 11.10 estão envolvidos na via de reparo do DNA, pode-se antecipar que mutações em outros genes que não *BRCA1* ou *BRCA2* poderiam levar a defeitos no reparo de DNA e possivelmente ao câncer. Este é realmente o caso. Como discutido anteriormente, mutações em *CHK2* podem causar LFS. Mutações no gene *ATM* podem causar ataxia-telangiectasia (Capítulo 3), uma doença autossômica recessiva que envolve instabilidade genômica extensa, ataxia cerebelar, vasos dilatados nos olhos e na pele (telangiectasia) e cânceres de origem linfóide. Uma outra síndrome de instabilidade cromossômica, a anemia de Fanconi, pode ser causada pela herança de duas cópias de uma mutação em *BRCA2*.

Ainda que mutações em *BRCA1* e *BRCA2* sejam as causas mais comuns de câncer de mama herdado, esta doença também pode ser causada por mutações em vários outros genes supressores de tumor (e. g., os genes *CHK2* e *TP53* discutidos anteriormente). Mutações na linhagem germinativa de um gene supressor de tumor chamado *PTEN* são responsáveis pela doença de Cowden, caracterizada por múltiplos tumores benignos e uma susceptibilidade elevada para câncer de mama. Alguns estudos sugeriram que portadores heterozigotos de mutações no gene *ATM* têm uma susceptibilidade aumentada ao câncer de mama, mas estes achados permanecem controversos.

---

■ Mutações em *BRCA1* e *BRCA2* são responsáveis por uma proporção significativa de casos de câncer de mama herdados, especialmente aqueles de início precoce. Estas mutações geralmente resultam em um produto proteico truncado e perda de sua função. Os produtos proteicos destes genes representam papéis importantes no reparo do DNA

---



**FIGURA 11.10** ■ Papéis de BRCA1 e BRCA2 no reparo do DNA. BRCA1 é fosforilado por ATM e CHEK2 em resposta a quebras na fita dupla do DNA (produzidas, por exemplo, pela radiação ionizante). BRCA1 se liga a BRCA2, que interage com RAD51 para formar um complexo envolvido em reparo no DNA.

## Melanoma Familiar

Como resultado da exposição aumentada à radiação ultravioleta, a incidência de melanoma aumentou cerca de 20 vezes nos EUA nos últimos 70 anos. É hoje um dos cânceres mais comuns, com 37.000 novos casos por ano. O risco de se desenvolver melanomas aumenta por um fator de 2 quando um parente de primeiro grau é afetado. O risco aumenta mais ainda, para aproximadamente 6,5, quando o parente de primeiro grau é afetado antes dos 50 anos de idade. Estima-se que aproximadamente 5% a 10% dos casos de melanoma ocorram em formas familiares, herdadas.

A análise de ligação em famílias e os estudos de perda de heterozigose em células tumorais de melanoma mapearam um gene para o melanoma familiar no braço curto do cromossomo 9. A clonagem posicional e a análise de mutações subsequentes levaram à identificação do gene *CDKN2A* como a causa do melanoma familiar. Este gene codifica um inibidor de cinase dependente de ciclina (denominado p16) que, como p21, interage negativamente com a cinase dependente de ciclina (CDK4) que fosforila e sub-regula a proteína pRb (veja Fig. 11.5). Como pRb, quando ativa, age como um freio no ciclo celular, mutações de perda de função no gene supressor de tumor *CDKN2A* resultam em ausência de controle do ciclo celular, produzindo, deste modo, melanomas.

Mutações herdadas no gene que codifica CDK4 também podem resultar em melanoma familiar. Estas mutações de ganho de função convertem a cinase dependente de ciclina a partir de um proto-oncogene em um oncogene ativado. CDK4 ativado constantemente sub-regula pRb, resultando mais uma vez em ausência de controle de ciclo celular e formação de tumor. O melanoma é um exemplo no qual um mesmo tipo de tumor pode

resultar tanto da ativação de um proto-oncogene (*CDK4*) ou da perda de um gene supressor de tumor (*CDKN2A*).

*CDKN2A* representa um papel não somente no melanoma familiar, mas também em aproximadamente 25% dos casos de melanoma esporádicos, nos quais a mutação somática de perda de função deste gene leva à inativação da proteína supressora de tumor p16. Como se pode esperar, mutações somáticas em outros genes também são vistas em melanomas esporádicos. Aproximadamente dois terços destes tumores contêm mutações em *BRAF*, um gene que codifica uma cinase envolvida na via de transdução de sinal de RAS. Além disso, mutações de perda de função no gene *APAF1* permitem que a célula evite a via apoptótica de p53.

■ O melanoma familiar pode ser causado por mutações de perda de função no gene supressor de tumor *CDKN2A* ou por mutações de ganho de função no proto-oncogene *CDK4*. Ambas as mutações resultam em perda de controle do ciclo celular pela via pRb. Mutações somáticas em *CDKN2A* e em *BRAF* são vistas em 25% e em 65% a 70% dos melanomas esporádicos, respectivamente.

## Proto-Oncogene *RET* e Neoplasia Endócrina Múltipla

O gene *RET*, inicialmente identificado por ensaios de transfecção (veja discussão anterior), codifica um receptor de tirosina cinase que inclui um domínio receptor extracelular, um domínio transmembranar e um domínio de tirosina cinase intracelular. *RET* está envolvido na migração das células da crista neural embrionária (veja o Capítulo 10) e é normalmente ativado por um complexo que consiste em fatores neurotróficos derivados da glia (GDNF) e um co-receptor denominado GRFα. A proteína *RET* interage com várias vias de transdução de sinais, incluindo a via de RAS.

Mutações herdadas de perda de função em *RET* podem produzir a doença de Hirschsprung (ausência de células nervosas entéricas, resultando em constipação crônica e severa e distensão do intestino). Mutações de ganho de função no mesmo gene resultam em atividade em excesso da tirosina cinase e aumento da transdução de sinal, levando à proliferação celular e, dependendo do tipo de localização da mutação, a alguma das três formas de neoplasia endócrina múltiplas do tipo 2 (MEN2). (1) MEN2A é caracterizada por carcinoma tireoidiano medular, hiperplasia da paratiróide e feocromocitoma (um tumor da supra-renal). Mais de 98% dos casos de MEN2A são causados por mutações de sentido trocado que afetam cisteínas no domínio extracelular de *RET*. (2) MEN2B é semelhante a MEN2A, mas não possui a hiperplasia da paratiróide e inclui neuromas múltiplos de mucosa e uma aparência marfanóide. Praticamente todas as alterações em MEN2B são mutações de sentido trocado que afetam o domínio de tirosina cinase de *RET*. (3) A síndrome que consiste somente em carcinomas tireoidianos medulares familiares pode ser causada por mutações em ambos os domínios extracelulares e de tirosina cinase de *RET*. *RET* é um dos quatro proto-oncogenes em que mutações podem ser causadas por síndromes de câncer herdadas (veja a Tabela 11.3 para outros exemplos).

A identificação de mutações responsáveis por cada uma destas síndromes de câncer herdadas forneceu uma forma precisa de diagnóstico precoce em mais de 98% dos casos de MEN2A. A tireoidectomia profilática antes dos 6 anos de idade é recomendada para crianças que herdaram a mutação causadora da doença (a tireoidectomia antes de 3 anos de idade pode ser indicada para os tumores mais agressivos de MEN2B).

Alterações somáticas em *RET* podem produzir carcinomas de tiróide papilares, o tipo de tumor na tiróide mais comum. A prevalência deste tumor aumentou substancialmente entre os indivíduos que foram expostos ao acidente radioativo no reator nuclear de Chernobyl (veja o Capítulo 3). Sessenta por cento dos carcinomas de tiróide papilar nestes indivíduos continham alterações somáticas em *RET*.

O gene *RET* é um exemplo de extraordinária heterogeneidade alélica. Mutações de perda de função neste gene produzem defeitos no desenvolvimento embrionário do intestino, enquanto mutações de ganho de função resultam em aumento da transdução de sinal e várias formas de neoplasia endócrina. Este exemplo ilustra a conexão crítica entre o desenvolvimento e o câncer: ambos envolvem a regulação genética sintonizada do crescimento e da diferenciação celular.

---

■ Mutações de perda de função no proto-oncogene *RET* podem produzir a doença de Hirschsprung, uma doença do desenvolvimento endócrino. Mutações de ganho de função na linhagem germinativa no mesmo gene podem levar a qualquer um dos três tipos diferentes de cânceres herdados. Alterações somáticas em *RET* podem produzir carcinomas de tiróide papilar não-herdados.

---

## Outros Genes de Câncer Herdados

Mais de 30 genes mutantes responsáveis por síndromes de cânceres herdados foram identificados. Estes incluem os genes que causam a neurofibromatose tipo 2, a síndrome de von Hippel-Lindau e a síndrome de Beckwith-Wiedemann (veja Tabela 11.1). Com a presente geração de fontes genômicas, incluindo a seqüência de DNA humano completa, é razoável esperar a identificação de mais destes genes.

## BASE MOLECULAR DO CÂNCER

Cada um dos genes identificados associados a síndromes de cânceres herdados fornece uma visão única dos mecanismos genéticos da carcinogênese. Aqueles que representam elementos da regulação transcricional do ciclo celular (*RB1*, *TP53*), transdução de sinal (*NF1*) e reparo de DNA (*BRCA1*, *BRCA2* e os genes HNPCC) prometem contribuir significativamente para a nossa compreensão destes processos.

É impressionante que praticamente todos os genes causadores de tumores herdados descritos até hoje tenham propriedades recessivas, pelo menos no nível celular do carcinoma. Esta observação sugere que um alelo herdado que produz um tumor no estado heterozigoto não seria tolerado durante o desenvolvimento. Esta visão é apoiada pela distribuição de tecidos quase ubíqua do produto destes genes. Como eles são expressos em vários, se não todos, os tipos celulares, pode cada um representar um papel fundamental durante o desenvolvimento embrionário (veja o Capítulo 10).

Do ponto de vista médico, a caracterização de genes de tumores herdados pode ser muito proveitosa. O diagnóstico pré-sintomático de indivíduos em famílias de risco para o câncer pode especificar aqueles que precisam sofrer inspeção constante ou até intervenção, e isso pode retirar uma carga médica e psicológica daqueles que não herdaram o alelo mutante familiar. Se alelos mais sutis de predisposição provarem ser importantes na incidência de câncer em geral, a habilidade de definir um risco populacional pode reduzir o custo geral da vigilância do câncer na população como um todo. No futuro, um melhor entendimento destes genes e de suas funções

vai oferecer esperança para a prevenção do câncer porque estes genes são claramente limitantes da formação do tumor. Se seus alelos mutados servirem de indicadores do surgimento de tumores nascentes, ou se suas funções normais puderem ser restauradas por intervenção médica, eles terão um importante papel na prevenção do câncer.

O estudo de genes de cânceres herdados forneceu várias elucidações, mas muitas perguntas importantes permanecem. Ainda que genes de cânceres herdados sejam amplamente expressos em vários tecidos, por que a maioria das síndromes de câncer herdadas se caracteriza por tipos tumorais específicos (ex., retinoblastomas e osteossarcomas para *RBI*, tumores de cólon para *APC*)? Por que tipos de tumores associados a alterações herdadas de genes de câncer freqüentemente diferem dos tipos tumorais associados a alterações somáticas dos mesmos genes (ex., mutações herdadas em *TP53* levam a câncer de mama, leucemia, tumores de cérebro, sarcoma de tecidos moles e osteossarcomas, mas mutações somáticas em *TP53* podem levar a tumores de pulmão, de cólon, entre outros)? Em que nível, e de que maneiras, os genes de cânceres herdados estão envolvidos nos cânceres comuns, não-herdados?

---

■ O mapeamento e a clonagem contínua de genes de síndromes de câncer fornecerão conhecimentos importantes dos mecanismos da carcinogênese e nos processos biológicos fundamentais. O diagnóstico pré-sintomático de membros de família de risco para o câncer e, finalmente, a possibilidade de intervenções genéticas são outros importantes objetivos e recompensas potenciais destes estudos.

---

## A HERANÇA GENÉTICA É IMPORTANTE NOS CÂNCERES COMUNS?

O papel e até mesmo o significado da predisposição herdada nos cânceres comuns, como os carcinomas de mama, de cólon e de próstata, ainda não está certo. Um aumento aparente na freqüência de cânceres comuns em algumas famílias levou à sugestão de que alelos causadores de cânceres comuns pudessem existir. O agrupamento familiar traduz em aumento no risco relativo de câncer de mama, por exemplo, entre mulheres com parentes de primeiro grau que tiveram câncer de mama. A base genética deste risco elevado ainda não foi demonstrada. No entanto, evidências indicam que uma fração de casos de câncer de mama pré-menopausa é associada aos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Além disso, análises estatísticas de grandes heredogramas forneceram suporte para um componente genético no câncer de cólon comum e no câncer de próstata.

Como vamos finalmente determinar se “alelos de câncer” comuns existem na população? Talvez, uma

forma seja explorar novas abordagens de mapeamento gênico que identifiquem genes envolvidos nas vias celulares de câncer. Cada um destes se torna um gene candidato que, hipotetizamos, pode conferir predisposição ao câncer. O teste mais importante da hipótese gene-candidato vai ser determinar se existem mutações no gene entre os pacientes com câncer. Encontrar estas mutações vai validar a hipótese genética. Se nenhuma mutação for encontrada, porém, permaneceremos incertos, porque uma predisposição genética poderia ainda ser conferida por um alelo de um gene ainda não identificado e testado.

---

■ A questão da existência de alelos de cânceres comuns na população pode ser abordada pelo rastreamento de mutações entre o número crescente de genes identificados conhecidamente envolvidos em mecanismos celulares que levam ao câncer.

---

Uma descrição detalhada dos genes e eventos genéticos que envolvem o câncer está emergindo rapidamente. Os genes identificados caem em três categorias relativamente distintas: oncogenes mutantes que agem como promotores de crescimento celular; supressores de tumor mutantes que freqüentemente falham em inibir o crescimento celular; e mutações em genes de reparo do DNA que criam uma freqüência alta de oncogenes e de supressores de tumor mutados. Estas categorias compartilham o fato de que cada uma, ao final, afeta a regulação genética e o crescimento e desenvolvimento celular. Ainda que agindo em pontos diferentes, elas regulam as mesmas atividades celulares e as vias de informação fundamentais. Técnicas novas e poderosas em biologia molecular e genética estão identificando genes específicos associados a tipos tumorais específicos. Novas informações significativas estão começando a se tornar disponíveis para pesquisadores e clínicos e pode-se esperar que criem diagnóstico altamente especializado e ferramentas terapêuticas que reduzam o fardo do câncer.

## LEITURAS SUGERIDAS

- Balmain A, Gray J, Ponder B (2003) The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet* 33:238-244.
- Blasco MA (2003) Telomeres and cancer: a tale with many endings. *Curr Opin Genet Dev* 13:70-76.
- Deng CX, Brodie SG (2000) Roles of *BRCA1* and its interacting proteins. *Bioessays* 22:728-737
- Fodde R, Smits R, Clevers H (2001) *APC*, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 1:55-67
- Grady WM, Markowitz SD (2002) Genetic and epigenetic alterations in colon cancer. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 3:101-128

- Hahn WC, Weinberg RA (2002) Modelling the molecular circuitry of cancer. *Nat Rev Cancer* 2:331-341
- Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100:57-70
- Hansford JR, Mulligan LM (2000) Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis. *J Med Genet* 37:817-827
- Hickman ES, Moroni MC, Helin K (2002) The role of p53 and pRb in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 12:60-66
- Ho A, Dowdy SF (2002) Regulation of G(1) cell-cycle progression by oncogenes and tumor suppressor genes. *Curr Opin Genet Dev* 12:47-52
- Knudson AG (2001) Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nat Rev Cancer* 1:157-162
- Knudson AG (2002) Cancer genetics. *Am J Med Genet* 111:96-102
- Lynch HT, de la Chapelle A (2003) Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 348:919-932.
- Maser RS, DePinho RA (2002) Connecting chromosomes, crisis, and cancer. *Science* 297:565-569
- Nathanson KL, Wooster R, Weber BL, Nathanson KN (2001) Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med* 7:552-556
- Nevins JR (2001) The Rb/E2F pathway and cancer. *Hum Mol Genet* 10:699-703
- Pandolfi PP (2001) Oncogenes and tumor suppressors in the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Hum Mol Genet* 10:769-775
- Peltomaki P (2001) Deficient DNA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer. *Hum Mol Genet* 10:735-740
- Ponder BA (2001) Cancer genetics. *Nature* 411:336-341
- Venkitaraman AR (2002) Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 108:171-182
- Vogelstein B, Kinzler KW (eds) (1998) *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York

## RECURSOS DA INTERNET

- Massachusetts General Hospital Cancer Center (*links para muitos sites úteis sobre câncer de mama*)  
<http://www.cancer.mgh.harvard.edu/Links.htm>
- National Cancer Institute Information site (informações gerais sobre câncer e genética do câncer, bem como *links para outros sites úteis*)  
<http://cancer.gov/cancerinformation>

## QUESTÕES DE ESTUDO

1. O locus *G6PD* é localizado no cromossomo X. Estudos de alelos de *G6PD* em células tumorais de mulheres mostraram que todas as células tumorais geralmente expressam o mesmo único alelo *G6PD*, mesmo que a mulher seja heterozigota no locus *G6PD*. O que este achado diz a respeito da origem das células tumorais?
2. Se supusermos que a taxa de mutação somática no locus *RBI* é de três mutações por milhão de células e que existe uma população de 2 milhões de retinoblastos por indivíduo, qual a frequência esperada de retinoblastoma *esporádico* na população? Qual o *número esperado de tumores* por indivíduo entre aqueles que *herdam* uma cópia mutada do gene *RBI*?
3. Compare e contraste oncogenes e genes supressores de tumor. Como as características destas duas classes de genes causadores de tumor afetaram a nossa habilidade de detectá-los?
4. Membros de famílias com a síndrome de Li-Fraumeni quase sempre desenvolvem tumores em torno de 65 a 70 anos de idade, mas a probabilidade de desenvolverem um tipo *específico* de câncer, como carcinoma de mama ou de cólon é relativamente baixo. Explique.