

Genes oncossupressores e cancro

Desgravada por: Fátima Seabra e Luciano Pereira

Os *oncogenes* são “aceleradores da divisão/proliferação celular”, por oposição aos *genes supressores tumorais* que são inibidores de processos que levam à divisão celular, à proliferação, que de alguma forma regulam a diferenciação celular e que induzem a morte celular programada quando há erros mutacionais. Numa divisão muito simples, podem-se categorizar os genes em dois grandes grupos que fazem a regulação da homeostasia celular, deste modo tem-se os *oncogenes* ou *protooncogenes* quando a célula necessita de proliferar, de se dividir e os *genes supressores tumorais*, que são inibidores e que são reguladores da homeostasia celular.

Em 1914, Boveri tentou descrever quais os mecanismos reguladores das células embora ainda se desconhecêssem a existência de genes. Este sugeriu que na célula normal o processo de divisão celular começava quando eram inibidos processos de estimulação celular, portanto ele introduziu o conceito da inibição de estímulo para a divisão celular, e também sugeriu que os tumores surgiam ou que a havia a capacidade de transformação maligna quando haviam cromossomas inibitórios que eram eliminados. É a primeira vez, que é sugerido o conceito de inibição ou de genes que têm a função inibitória de crescimento celular.

Mais tarde em 1969 surgiu a primeira experiência *in vitro* que sugere exactamente o conceito que Boveri tinha apontado de genes supressores ou função inibitória. Esta experiência consistia na fusão de uma célula normal, que fenotipicamente tinha características de célula normal, portanto tinha inibição de crescimento por contacto – ela crescia de uma forma ordenada *in vitro* – e fundiu-se esta célula com uma célula tumoral, com aspecto fenotípico de célula tumoral – ou seja ela não tinha inibição de crescimento, portanto crescia de uma forma desordenada, em que as células se acumulavam no topo umas das outras. Esta fusão celular levou à existência de uma célula híbrida. Quando esta surgiu, ela apresentava características não semelhantes às células tumorais, mas sim à célula normal, começou a crescer de uma forma ordenada como a célula normal. Com a manutenção do crescimento desta célula híbrida *in vitro*, ela passou do fenótipo normal ao fenótipo do tipo tumoral, ela adquiriu todas as características de um tumor. Então foi levantada a hipótese de que a célula tumoral ao fundir-se com a célula normal, adquiria cromossomas que tinham a função inibitória de crescimento ou que induziam características que faziam a com que célula tumoral passasse a comportar-se como uma célula normal. A célula híbrida adquiriu esses cromossomas inibitórios e durante as passagens *in vitro*, durante a manutenção das células, com as contínuas divisões, ela perdeu esses cromossomas que tinham função inibitória e portanto, perdeu os ditos factores inibitórios e passou a comportar-se de uma forma semelhante às células tumorais. É pela primeira vez que se sugere que a perda de cromossomas normais leva ao aparecimento de tumores, ou seja, tem a função de transformação maligna. Não é como os *oncogenes* que ganham função e passam as células a terem uma função aberrante; neste caso é por *perda de sinais inibitórios de crescimento*.

É só em 1986 que formula o conceito correcto de *genes supressores tumorais*, em que numa célula tumoral há a micro-injecção de um gene que tem função inibitória, que faz com que esta passe a adquirir um aspecto de célula híbrida semelhante ao da célula descrita em 1969 e adquire exactamente o fenótipo normal, ou seja, ela perde todas as características de célula tumoral apenas com a introdução de um gene que é um gene supressor tumoral.

Se num ratinho atímico se injectar uma linha celular tumoral, espera-se que neste surjam tumores, pois essas células têm capacidade de sobreviver e de desenvolver um tumor num animal de experiência. As células tumorais que forem inoculadas com um gene supressor tumoral no ratinho, não são capazes de produzir nenhum tipo de tumor, ou seja, as células perderam toda a sua capacidade transformante, mesmo em ratinhos destituídos de timo.

Gene supressor tumoral é qualquer gene que codifique uma proteína que tem actividade regulatória da homeostasia celular e cuja perda de função aumenta o risco de transformação de uma célula normal numa célula neoplásica. Há dois grandes grupos de genes supressores tumorais: uns que quando perdem a função eles induzem rapidamente a transformação maligna; e outros que por si próprios não induzem imediatamente a transformação maligna, mas aumentam o risco e necessitam de alguns eventos genéticos adicionais, são por exemplo os genes que regulam e que fazem a reparação do DNA.

Os genes supressores tumorais, características:

- a) codificam proteínas com localização celular diversa.
- b) são genes necessários para a regulação da proliferação e diferenciação celular,
- c) a perda de função favorece o aparecimento e/ou o desenvolvimento de um processo tumorigénico,
- d) precisam de sofrer a inactivação de ambos os alelos,
- e) podem sofrer mutações somáticas e/ou germinativas.

Genes supressores tumorais que codificam proteínas

Estes codificam proteínas de membrana, que normalmente são receptores de membrana, como o TGF β -RII; a caderina-E que é comumente designada como molécula de adesão, mas estudos recentes revelam que esta tem a capacidade de induzir a apoptose. Há, no entanto, outros genes que codificam proteínas citoplasmáticas, que poderão ser proteínas transdutoras de sinal, como o *Smad4*, ou reguladoras de proteínas transdutoras de sinal, como o APC. Outros ainda, codificam proteínas nucleares que podem ser reguladores do ciclo celular, ex. o retinoblastoma e os *cyclin-dependent-kinases inhibitors (CDKI)* – p14, p16 e a p21 –, ou que codificam a transdução de sinal. Ao contrário dos oncogenes estes têm função inibitória, portanto, a sua função normal é, por exemplo, terem a capacidade de transmitir sinais inibitórios de crescimento. NÃO ESQUECER que eles são “travões” por oposição aos oncogenes que são “aceleradores”, ou seja, uma alteração não é indicador de transformação maligna, mas apenas de que há um maior risco de esta decorrer, recorde-se que são necessários dois eventos para que esta decorra.

Outro gene supressor tumoral: o *Bax*, é um gene pró-apóptico, que quando alterado aumenta o risco de transformação maligna, a apoptose falha.

APC

É uma proteína citoplasmática que regula uma outra a β -catenina, que tem capacidade transformante, cuja importância está associada ao controlo entre a zona proliferativa do intestino (cólon) e a zona diferenciada do cólon, ou seja, da zona entre as criptas e as vilosidades intestinais. O APC faz com que cripta proliferativa se mantenha na região das glândulas, mantendo as células que estão em constante divisão celular no nicho proliferativo e que depois estas células sofram modificações/diferenciação, que faz com que estas células adquiram capacidade de absorção.

Este processo é decorrente da acção de sinais de crescimento que fazem activar um receptor, que faz com que haja a chamada de uma proteína que é a β -catenina, sendo que esta induz a divisão celular. O APC, é uma proteína

frenadora que regula este processo, através da degradação da β -catenina que se encontra em excesso, não está a ser necessária à divisão celular.

Se este APC se encontrar na sua função normal, haverá um balanço regulado entre os níveis de β -catenina que são necessários para a divisão celular no nicho proliferativo. Seguidamente a perda dos níveis de β -catenina leva à formação de células mais diferenciadas, na zona das glândulas do cólon, tendo portanto esta proteína a função de degradar ou não degradar a β -catenina.

Quando há a falha deste APC, não existe uma proteína capaz de regular os níveis de β -catenina, de a degradar, havendo uma acumulação desta, sendo que esta será recrutada para a ligação a um factor de transcrição que é o **TCF** e que leva a uma expressão de genes que fazem com que haja expressão desregulada da divisão celular. Traduzindo-se esta alteração, na glândula do cólon, pela acumulação e a proliferação de células do cólon, em outros locais além do nicho proliferativo.

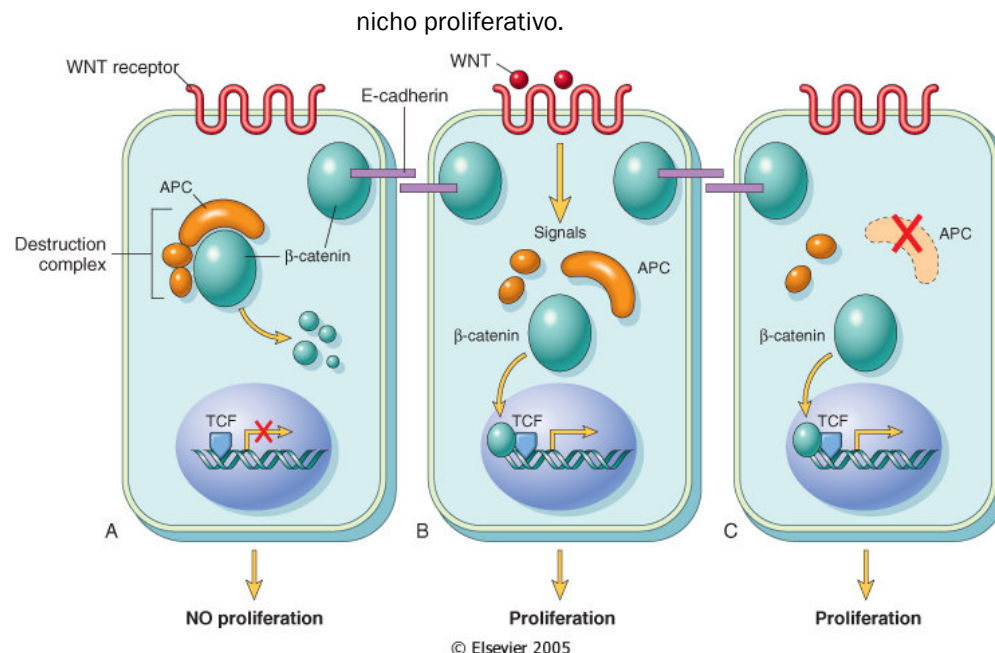


Ilustração 1. O papel do APC na regulação da estabilidade e função da β -catenina.

A perturbação do APC implica um aumento de risco de transformação maligna porque começa haver perturbação da diferenciação celular e aumento da divisão celular. Não obstante, se apenas houver aumento da divisão celular no cólon, apenas aparecerão pólipos, que por si só não serão tumores malignos, haverá a necessidade acumulação de outros eventos.

Retinoblastoma (Rb)

É um gene que codifica uma proteína nuclear, cuja sua função normal é regular o ciclo celular na fase S, que tem um efeito frenador, ou seja, diminui a divisão celular, sendo que as células não entram em divisão. Este na sua forma activa desempenha a função de sequestrar factores de transcrição que levam à divisão celular, manifestando deste modo, o seu efeito frenador. Na presença do gene do Rb, que codifica uma proteína com o mesmo nome, há uma divisão celular muito equilibrada, havendo portanto uma diferenciação da retina muito bem regulada, uma retina normal.

Quando o Rb sofre mutações ou deleções, ele não é capaz de sequestrar um dos factores de transcrição, o E2F, ficando este livre e capaz de se ligar ao DNA e assim induz a divisão celular. Esta divisão aumentada nos retinoblastos designa-se por Rb, que é um tumor do olho.

Mecanismo de inactivação dos genes supressores tumorais

1) Inactivação do 1º alelo

Em 1969, postulou-se que este basear-se-ia em dois passos, sendo um deles seria a mutação de um dos alelos e o outro a inactivação do outro alelo, ou seja, seriam necessário 2 *hits* para a perda completa de função deste tipo de genes, há o silenciamento completo do gene, que é expressa fenotipicamente. Esta mutação poderia ser de dois tipos:

- somática – apenas no tecido onde decorreria a transformação maligna;
- germinativa – o indivíduo ser portador de mutações a nível constitucional.

Estas últimas não são impeditivas de um desenvolvimento normal, pois para ocorrer transformação maligna são necessárias duas alterações, sendo que uma não é suficiente para a perda de função do gene e expressão fenotípica dessa perda. Este é mecanismo é distinto do manifestado pelos oncogenes, nos quais basta apenas uma alteração genética, para que haja aumento de função.

A primeira mutação pode existir ou a nível tecidular (somático) ou a nível constitucional (germinativo), sendo que esta perda em *hemi-dose* não leva à inactivação completa do gene.

Assim no Rb há dois alelos, sendo que ao nível da retina poderá existir uma mutação e se esta for apenas uma, o alelo normal ainda tem a capacidade ter exercer a sua função de suprimir a divisão celular, não havendo, portanto, tumor.

(Rb hereditário- 40% dos casos; são rb bilaterias e multifocais e há opacidade da córnea)

2) Inactivação do segundo alelo

A maioria das vezes, o mecanismo de inactivação é por mutação, podendo esta ser uma **mutação pontual** em que há a existência de um codão STOP precoce, ou uma **mutação missense** ou uma pequena **delecção** (delecção do alelo *wild type*), ou ainda, mecanismos epigenéticos que levam à silenciamento do gene, como por exemplo: metilação do promotor do alelo *wild type*. Há, no entanto, outros mecanismos de inactivação que são raríssimos (grandes delecções que podem atingir todo o cromossoma).

Delecção

Uma forma de vermos a delecção completa do cromossoma é por *hibridização in situ*. Se tivéssemos sondas que marcassem os cromossomas onde se localiza o gene do Rb, ver-se-ia que as células tumorais só teriam um cromossoma 13 (cromossoma onde se localiza o gene Rb).

Porém, existem formas mais finas de vermos delecções. Uma dessas formas, foi descrita em 1983 através de uma característica, que se baseia na perda de heterozogotia.

Perto dos genes temos sequência não codificantes, sequências polimórficas, que servem muitas vezes para distinguir indivíduos nas análises forenses. Nas neoplasias utilizamos estas sequências para sabermos se estamos na presença de um ou dois alelos. Por exemplo, com marcadores que flanqueem a sequência polimórfica, após PCR levam a produção de 2 fragmentos diferentes, logo existem 2 alelos diferentes, é um indivíduo heterozigoto.

Metilação

O promotor do gene é uma zona reguladora deste. Quando não temos metilação no promotor é possível a ligação de factores de transcrição que vão induzir a transcrição do gene. Quando há metilação deste, as citosinas estão ligadas a grupos metil, não possibilitando a ligação dos factores de transcrição a este promotor, e assim não há

transcrição do gene. Nota: as zonas ricas em citosinas são chamadas ilhas CpG e são nestas ilhas onde ocorre metilação.

Outros mecanismos de inactivação do 2º alelo (raríssimos)

Não disjunção cromossómica

Recombinação mitótica em que há troca de material genético entre dois cromossomas um normal e o outro mutado

Conversão génica em que o gene do alelo normal perde-se totalmente e há a conversão desse gene num gene igual ao mutado.

Muitas vezes, a perda de função de um gene supressor tumoral não tem capacidade ela própria de transformação maligna completa, pelo que há necessidade de acumulação de outras alterações genéticas de oncogenes ou mesmo outras perdas de genes supressores tumorais. Ex no cólon há perda de APC, mas há a necessidade de acumular outras alterações, como por exemplo, a activação de oncogenes – RAS – ou perda de oncosupressores – p 53.

SUMÁRIO

Os genes supressores tumorais são genes que sofrem mutações germinativas ou somáticas; cuja inactivação de ambos os alelos, se traduz na perda da sua função: regulação, proliferação, diferenciação e reparação celular, sendo que esta favorece o desenvolvimento tumoral.

Glossário:

Oncogenes	APC (<i>adenomatous polyposis coli</i>)	metilação do promotor génico
Genes supressores tumorais	CDKI (<i>Cyclin dependent kinase inhibitors</i>)	mutação germinativa
TGFβ–RII	p16	mutação somática
Caderina-E	p21	delecção
BAX	catenina(s)	PCR (polymerase chain reaction)
Retinoblastoma (Rb)		Hibridização <i>in situ</i>

BOM TRABALHO a TODOS!!!

