

# Carcinogênese ambiental, tabaco, bactérias e vírus

(acompanhem com os slides!!)

O tabaco, vírus e bactérias são exemplos. Os carcinogêneos ambientais são muitos mais do que estes.

O que este esquema pretende representar é que o homem não é só aquilo que os seus genes são, é também o resultado da acção do ambiente sobre esses genes.

No esquema posso substituir homem por cancro que é uma doença genética com um grande componente ambiental.

Podemos classificar os carcinogêneos ambientais em agentes químicos, físicos e microbiológicos.

Como podemos avaliar a carcinogenicidade de um agente?

A agência internacional para pesquisa no cancro (IARC) avalia o risco recolhendo toda a informação quer sejam dados epidemiológicos, experiências em animais, estudos em culturas celulares, etc. e coloca o agente num determinado grupo.

Existem vários grupos. O grupo 1 contém os agentes reconhecidamente carcinogêneos para humanos. O grupo 2A são os agentes que provavelmente são carcinogênicos para humanos, mas não vamos menosprezar este “provavelmente” pois significa que há evidências em animais, mas que não há evidências suficientes em termos de população humana.

## Agentes Físicos

Os mais conhecidos são as radiações, das quais há diferentes tipos como os raios X e gamma, outros tipos de radiação ionizante, também partículas emitidas pelos radionucleotídeos, etc. que estão associados a diferentes tipos de cancro. Por exemplo, as populações sobreviventes aos bombardeamentos de Hiroshima e Nagasaki, submetidas a elevadas doses de radiações gamma, sofreram um grande aumento na incidência de cancro da mama, da tiróide, leucemias entre outros.

A radiação UV para risco de cancro da pele pertence ao grupo 2A.

## Agentes Químicos

Este grupo é imensamente vasto. Nesta tabela estão os agentes carcinogênicos químicos de exposição ocupacional. Por exemplo, os indivíduos que trabalham na indústria do vidro, metal ou pesticidas, provavelmente têm uma grande exposição a arsénico e seus compostos, tendo maior risco de desenvolver cancro do pulmão e da pele. O que eu vos queria aqui mostrar era que existem muitos agentes químicos que são carcinogênicos e a exposição ocupacional é apenas um do tipo de exposição a que os indivíduos podem estar sujeitos. Não nos podemos esquecer de outros agentes químicos como por exemplo, a poluição ambiental, drogas medicinais e outros agentes.



Que flor será esta? É enganadora!... Esta é a flor da planta do tabaco.

O exemplo que nós vamos dar hoje dos agentes químicos é o tabaco. Existem mais de 2000 compostos químicos presentes na folha do tabaco e 61 deles já foram avaliados como capazes de induzirem um maior risco de cancro nos humanos ou em animais.

Aqui estão carcinogéneos do fumo do tabaco, excluimos o tabaco que é mascado e o fumo inalado por terceiros. Existem no tabaco várias classes químicas, cada uma delas com compostos representativos. Temos aqui os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH), que são muito importantes, também as nitrosaminas são agentes importantes e aqui na classe dos hidrocarbonetos voláteis o benzeno, para os quais já se conhecem os mecanismos de alteração fisiológica das células que levam a mutagenicidade e consequentemente ao desenvolvimento do cancro.

O fumo do tabaco associa-se a vários tipos de cancro para além do pulmão, para o qual há maior risco, também da cavidade oral, das vias aéreas superiores, faringe e laringe, pâncreas, esófago, bexiga e rins.

Nesta tabela podemos ver que a mortalidade por cancro do pulmão dos homens fumadores é 22 vezes maior do que a dos não fumadores.

É importante saber que não é só o facto de fumar que os põe em maior risco de desenvolver cancro, o número de cigarros e o tempo durante o qual fumaram também são importantes. No gráfico verifica-se que em dois estudos diferentes há uma relação quase linear entre o número de cigarros por dia e o risco de cancro.

Os carcinogéneos presentes no fumo do tabaco, de maneira semelhante a outros agentes químicos, para serem carcinogénicos necessitam de sofrer uma activação metabólica. Os elementos são por si só considerados procarcinogéneos, precisando de uma série de reacções químicas para serem metabolicamente activos e transformados em carcinogéneos. Normalmente esta activação dá-se por enzimas designadas de fase I, por exemplo as do grupo do citocromo p450. As enzimas de fase II fazem a inactivação metabólica destes elementos. Estas são normalmente transferases como a glutatiónase transferase e ligam covalentemente um grupo ao carcinogéneo, o que facilita a sua excreção. Isto funcionaria tudo muito bem se as enzimas de fase I e II estivessem muito bem reguladas e equilibradas, ou se por exemplo a intensidade de exposição não fosse muito elevada.

Vamos considerar agora um elemento activado metabolicamente e que é um carcinogéneo. Ele pode ligar-se formando ligações fortes, covalentes, a moléculas do

hospedeiro, nomeadamente ao DNA. Esta ligação designa-se aducto de DNA. O que é que pode acontecer agora? Há várias possibilidades. O sistema de reparação de DNA pode detectar e reparar este DNA e voltamos a ter uma célula normal. Outra situação é que este aducto fará com que a célula entre em apoptose. Outra possibilidade é que esta lesão no DNA passe a ser permanente, e isto significa que será transmitida à descendência – passamos a ter uma célula iniciada. Tendo uma célula iniciada, pode haver um aumento da proliferação celular com expansão clonal daquela célula formando-se um clone pré-neoplásico. Se esse clone acumular mutações e outras alterações em genes supressores tumorais e oncogenes teremos então uma população celular que poderá vir a dar origem a uma neoplasia. O vosso livro designa de fase de iniciação a fase até à qual há uma célula iniciada, havendo agentes químicos que são apenas iniciadores, há outros que são o que o vosso livro designa por promotores, responsáveis pela fase de promoção, e ainda os agentes pleiotrópicos, importantes em ambas as fases.

Se formos olhar para um tecido neoplásico, neste caso é do pulmão, mas também de outros cancros com origem ambiental, muitas vezes o espectro de mutações ou o tipo de mutações que nós lá podemos encontrar acaba quase sempre por ser como uma assinatura que nos permite chegar ao carcinogéneo ambiental ou ao carcinogéneo químico que foi provavelmente responsável causal da neoplasia. Por exemplo, neste caso, temos mutações do gene da p53, vocês sabem que o gene da p53 é dos genes mais mutados nos cancros. No eixo x temos os codões da p53, e no eixo y temos a frequência de mutação, portanto cada barra corresponde ao número de mutações naquele codão encontrado em casos de neoplasia do pulmão. Quando olhamos para aqui vemos que os “hotspots” mutacionais na p53 no caso de cancro do pulmão estão localizados nos codões 273, 248 seguidos do 157 podendo assim detectar o agente causal. Neste caso é o benzopireno (presente no fumo do tabaco) responsável por todos estes casos.

Penso que terão a noção que há pessoas que fumam que nunca vêm a desenvolver cancro do pulmão, e indivíduos que nunca fumaram que o podem desenvolver. Temos de ter em conta a interacção genético-ambiental em relação ao tabaco. Podemos ver aqui que dois grupos de indivíduos são expostos aos PAH do tabaco. Lembrem-se das enzimas de fase I (ex. CYP1A1 do cit p450) que vos falei, responsáveis pela activação metabólica dos procarcinogéneos? Estas variam de indivíduo para indivíduo. Por exemplo, há formas que activam rapidamente os PAH, e outras que os metabolizam mais lentamente. Da mesma forma as enzimas de fase II de inactivação podem ser mais rápidas ou lentas. Logo, se um indivíduo possuir enzima de fase I rápidas e outro indivíduo de fase I lentas, tendo enzimas de fase II com capacidade semelhante e fumando a mesma quantidade diária de tabaco o indivíduo metabolizador rápido vai activar mais PAH havendo mais elementos capazes de se ligarem ao DNA formando aductos que o indivíduo metabolizador lento.

Existem também agentes microbiológicos considerados como carcinogéneos para os humanos. Nesta tabela, podemos ver que de todos os novos casos de cancro, ocorridos no mundo em 1995, aproximadamente 20% são causados por agentes microbiológicos, infecciosos.

Os agentes infecciosos mais representados como carcinogénicos são os vírus. De entre eles, o vírus do papiloma humano (HPV), é o mais representativo. Associado ao cancro do colo do útero, é responsável por 6% de todos os novos casos de neoplasia no mundo. Outros exemplos são também os vírus da hepatite B e C, associados ao cancro

do fígado, ou o vírus Epstein-Barr, ligado a vários tipos de linfoma e ao carcinoma da nasofaringe.

Também certos parasitas fazem parte destes agentes microbiológicos.

O *Schistosoma Haematobium* está associado ao cancro da bexiga (mais comum em Africa).

Alguns parasitas estão associados a cancros das vias biliares.

Apenas uma bactéria está representada neste grupo, o *Helicobacter Pylori* (HP), que, como já ouvimos falar, se associa ao cancro do estômago.

Reparem que o número total de neoplasias, pelas quais os agentes causais são os infecciosos, não se distribui da mesma maneira nas diferentes zonas geográficas. Nos países desenvolvidos, a fatia de agentes infecciosos responsável é muito menor.

Como é que um vírus dá origem a um cancro?

Aquilo que é comum a todos estes vírus, agentes causais de cancro é que o seu genoma é integrado no genoma da célula hospedeira. Não há locais específicos, conhecidos até ao momento, para a integração do genoma viral. Esta é geralmente feita ao acaso. No entanto, verifica-se que todas as células do mesmo cancro têm um padrão de integração clonal, ou seja, se o vírus se integrar num determinado promotor, todas as células desse cancro vão ter o local de integração do vírus nesse mesmo promotor, reforçando assim a pluralidade da neoplasia.

Como é que depois de integrado, o vírus faz com que as células sejam sujeitas a uma transformação maligna?

Podemos dividir grosseiramente os mecanismos em directos e indirectos.

Dos mecanismos directos, o caso mais estudado é o do HPV. Proteínas deste vírus (proteínas E6 e E7) são capazes de inactivar genes supressores tumorais das células humanas. A HPV E6 liga-se ao p53 e a HPV E7 liga-se à proteína do retinoblastoma (genes supressores tumorais, importantes na interrupção do ciclo celular), levando à sua destruição. As células passam a ter um ciclo desregulado, proliferando e apresentando simultaneamente menor diferenciação. Com o aumento da proliferação, a probabilidade da ocorrência de erros torna-se maior.

Outros vírus, como o Epstein-Barr ou o Human T-cell Leukemia vírus I, desregulam os sinais de proliferação e sobrevivência celulares através da activação de vias de sinalização celular ou, por exemplo, fazendo aumentar a expressão da ciclina D1 o que faz com que a célula entre em ciclo.

Em relação aos mecanismos indirectos, temos o caso dos vírus da hepatite B e C. Estes vírus podem originar cancro do fígado, no entanto os mecanismos directos não são conhecidos. Investigadores acreditam que os vírus induzem uma inflamação crónica que, por sua vez, vai levar à lesão e destruição das células do parênquima hepático, havendo uma progressiva regeneração desse parênquima (aumenta a taxa de proliferação). Simultaneamente, a inflamação traz com ela citocinas e outros agentes que também provocam danos e aumenta naquela região o número de espécies reactivas em oxigénio tornando a probabilidade de haver uma mutação nas células (em proliferação) maior. Há portanto uma indução de uma inflamação crónica e esta é que

acaba por levar a uma mutação, aumentando o risco de desenvolvimento de cancro em determinados indivíduos.

Também os parasitas e a bactéria que vimos anteriormente na tabela inicial apresentam este tipo de mecanismos.

Apesar de tudo, isto ainda é muito desconhecido. De facto, o mecanismo mais conhecido actualmente ainda é o do HPV.

O *Helicobacter Pylori* é um carcinogénio de grupo 1. Como vocês já sabem, esta bactéria provoca gastrite crónica. Dos indivíduos infectados, há uma minoria que pode vir a desenvolver cancro gástrico.

Que evidências levaram a considerar o HP como um agente carcinegénico de grupo 1?

Este mapa, é o mapa de incidência mundial de cancro gástrico. As áreas mais escuras são as de maior incidência deste cancro. Temos áreas como a América do Sul, algumas regiões de África, a Ásia, a Europa de Leste, Portugal e Espanha. Como podem ver, as zonas com maior prevalência de infecção por HP coincidem com as zonas de maior incidência de cancro gástrico. Este facto contribuiu para incluir o HP no grupo de carcinogénios de grupo 1.

Um outro tipo de evidência vem dos estudos que foram feitos em indivíduos com cancro gástrico, quando comparados com indivíduos sem este cancro. A presença de anti-corpos contra o HP foi avaliada e verificou-se, em diversos estudos, que os doentes com cancro gástrico apresentavam uma prevalência destes anti-corpos mais elevada.

Existe também um modelo animal (da família do hamster) que, quando infectado pela bactéria, desenvolve as lesões da via de carcinogénese gástrica semelhantes aquelas que acontecem nos humanos. A existência de um modelo animal é normalmente bastante importante para considerar o agente em questão (neste caso o HP) como um carcinogénico.

Mais recentemente foram feitos estudos, de entre os quais este estudo prospectivo, ao qual chamo a atenção. Foi um estudo de follow-up em que 1300 indivíduos foram seguidos durante 12 anos. Têm aqui a proporção de indivíduos que não desenvolveu cancro gástrico e, se repararem são os indivíduos que eram negativos quanto à infecção por HP. Ou seja, se não houver infecção pelas bactérias, pelo menos durante estes 12 anos de follow-up, não há desenvolvimento de cancro gástrico. Isto mais uma vez aponta para a infecção por HP como factor quase decisivo no desenvolvimento de cancro gástrico.

Da mesma maneira que vimos que nem todos os indivíduos que fumavam tinham o mesmo risco de vir a desenvolver cancro do pulmão, nem todos os indivíduos infectados têm o mesmo risco de vir a desenvolver cancro do estômago.

Há diferentes estirpes de *Helicobacter*, estas podem ser mais ou menos virulentas. As estirpes mais virulentas induzem uma maior resposta inflamatória por parte do hospedeiro e provocam alterações nas células da mucosa gástrica. No fundo é aquilo que está aqui nesta coluna, as estirpes vacA com a toxina do tipo s1 ou m1 são mais virulentas, por oposição às do tipo s2 e m2. As estirpes cagA-positivas também são mais virulentas que as cagA-negativas.

O que nós fizemos, foi comparar indivíduos que apresentavam apenas gastrite crónica, com indivíduos com cancro gástrico e verificou-se que os indivíduos infectados com estirpes mais virulentas tinham um risco aumentado de vir a desenvolver cancro gástrico. Por exemplo, na primeira linha, um indivíduo infectado com uma estirpe produtora de citotoxina s1, tem um risco de vir a desenvolver cancro 17 vezes maior do que um indivíduo infectado com uma estirpe produtora de citotoxina s2.

Quando a mucosa gástrica é infectada pelo HP, uma das interleucinas que se apresenta como resposta à infecção é a interleucina 1 $\beta$ . Da mesma maneira que tinham indivíduos que metabolizavam mais rapidamente os hidrocarbonetos policíclicos que outros, há também indivíduos capazes de produzir níveis mais elevados de IL 1 $\beta$  que outros. Estes indivíduos não diferem uns dos outros ao nível da composição do gene da IL 1 $\beta$  propriamente dita. O que estes indivíduos têm de diferente é uma mutação, um polimorfismo no promotor do gene. Se nesta região do gene, tiverem um alelo T, vão ter uma maior produção de IL 1 $\beta$ , e, mais tarde conclui-se que vão ter também um maior risco de desenvolver cancro gástrico.

Fomos então verificar até que ponto o factor genético e o factor ambiental aumentavam ou não o risco. E, em indivíduos infectados com as estirpes de HP mais virulentas e que têm um genótipo capaz de produzir mais IL 1 $\beta$  o risco aumenta consideravelmente. Assim, dependendo destes dois factores, os valores de risco podem variar.

O que é que é importante relativamente a estes carcinogéneos ambientais?

Cerca de 35% das mortes por cancro em 2001 foram atribuídas a 9 factores potencialmente modificáveis (agentes químicos, agentes físicos e agentes microbiológicos).

Isto significa que se reduzirmos a exposição a estes agentes, conseguiremos prevenir uma proporção elevada de mortes por cancro.



*That's all Folks!!*