

1

Introdução

1.1

Câncer: uma doença genética

O câncer é o termo utilizado para discriminar um conjunto de mais de 100 doenças relacionadas a fatores genéticos, em que progressivas mutações no DNA levam à interrupção das funções celulares normais e à expressão descontrolada de genes ligados à regulação e a proliferação celular [1, 2, 3, 4, 5]. Evidências experimentais e clínicas reforçam o conceito de que a maioria das neoplasias se origina a partir de uma única célula transformada e sugere que as trocas genéticas iniciais desencadeiam a instabilidade de todo genoma levando a uma cascata de novas alterações [1, 2].

A transformação de uma célula normal em tumoral é lenta, gradual e cumulativa e as mutações podem ocorrer em qualquer uma das etapas de crescimento e diferenciação celular. O acúmulo dos danos no DNA não só leva à alteração das funções celulares normais mais também facilita a expansão de clones das células alteradas, herdeiras dessa propensão ao crescimento e divisão desordenado e insensível aos mecanismos reguladores da multiplicação celular. O resultado é a formação do tumor ou neoplasia, que pode ser benigna ou maligna (Figura 1.1) [2, 6, 7].

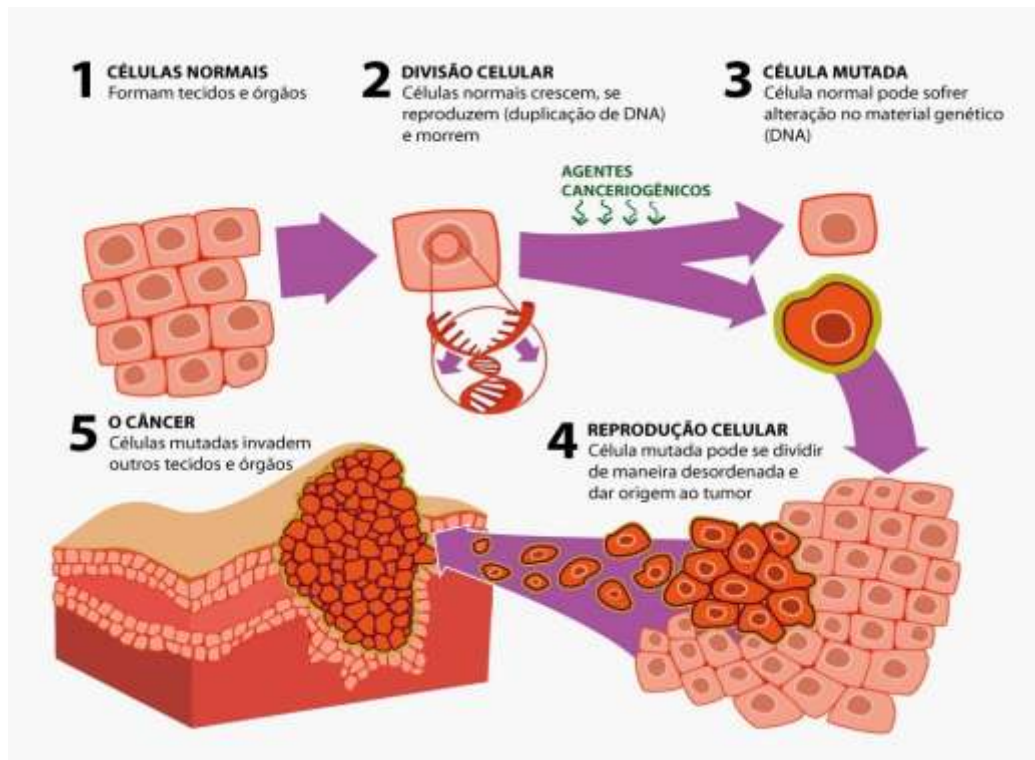


Figura 1.1- Formação do tumor ou neoplasia [8]

Este fenômeno lento de sucessivas alterações genéticas onde células normais progressivamente adquirem um fenótipo neoplásico é denominado carcinogênese, e geralmente envolve fatores exógenos, como a exposição a carcinógenos, e fatores próprios da célula, como falhas na reparação de erros ao azar que ocorrem durante a duplicação do DNA [9].

A carcinogênese pode ser dividida conceitualmente em quatro etapas: iniciação, promoção, conversão e progressão, e é o resultado de mutações em genes específicos relacionados ao controle da multiplicação e diferenciação celular e à sobrevivência celular (Figura 1.2) [2,10, 11].

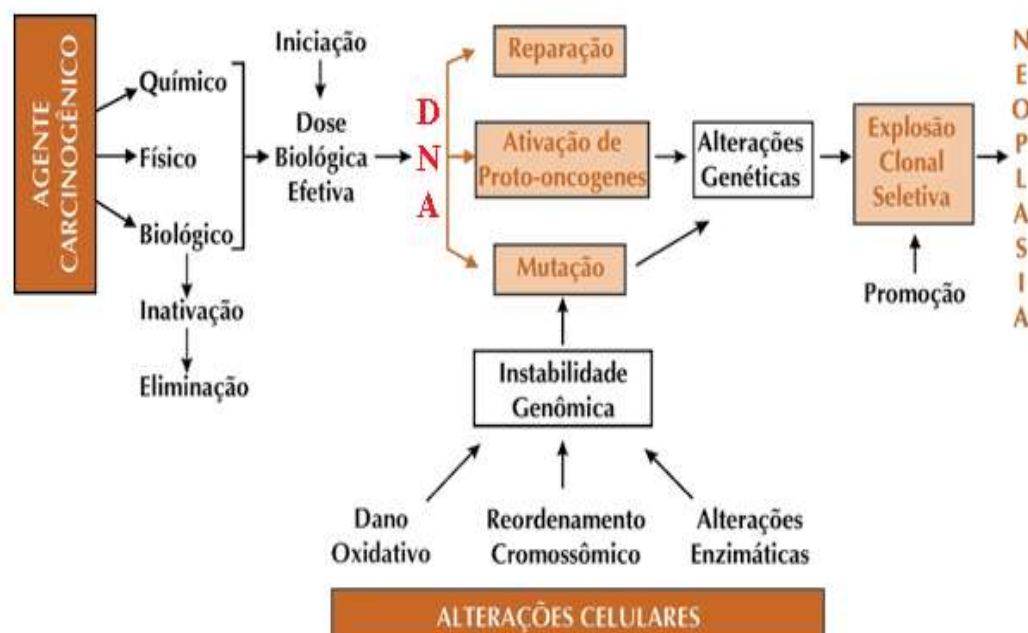


Figura 1.2 - As etapas da carcinogênese [12].

A iniciação tumoral é o processo que envolve a exposição das células normais a agentes químicos, físicos ou virais que causam danos irreversíveis nos genes, levando a ativação de oncogenes e/ou inativação de genes supressores de tumor. Esta etapa tem baixa frequência e depende diretamente da dose de carcinógeno. As células podem permanecer estacionárias no estado de “iniciadas” durante tempos variados se não são estimuladas a dividir-se. No entanto, células iniciadas respondem de maneira aumentada a alguns estímulos como, por exemplo, aos fatores de crescimento [2].

O processo de promoção compreende a expansão clonal das células iniciadas até formar tumores visíveis, geralmente lesões benignas ou focos de células preneoplásicas. A promoção pode ocorrer como consequência da exposição exógena, como o fumo do cigarro ou certas infecções, ou pode ser um processo endógeno, como a estimulação hormonal. Os promotores tumorais se caracterizam pela sua habilidade para reduzir o período de latência na formação de um tumor depois da exposição de um tecido a um iniciador, ou por aumentar o número de tumores formados nesse tecido. Assim, os promotores tumorais não são capazes, por si mesmos, de produzirem mutações no DNA, ou seja, não são carcinogênicos. Eles são capazes de induzir a formação tumoral quando combinados com um iniciador [2].

Denomina-se conversão maligna a transformação das células preneoplásicas em células que expressam o fenótipo maligno. Este processo necessita de mais trocas genéticas, as quais podem ocorrer por erros na síntese do DNA ou pela ativação do oncogenes, e/ou a inativação de genes supressores de tumor [2].

A progressão tumoral caracteriza-se na fase em que a célula adquire características cada vez mais agressivas, devido a enorme quantidade de mutações sofridas pela célula tumoral nesta fase. A instabilidade genômica experimentada pela célula propicia um ambiente favorável às trocas genéticas, ocasionando a amplificação de alguns genes e a expressão alterada de outros, podendo resultar em uma maior taxa de crescimento e na aquisição de propriedades como a invasão local e a disseminação metastática [2].

Os genes envolvidos na carcinogênese incluem aqueles cuja função está diretamente associada à proliferação celular, ao controle de morte celular programada, conhecido como apoptose, e a reparação do DNA danificado [3]. Estes genes podem ser classificados em três classes principais. Os protooncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparação do DNA [2,3]. Nos últimos anos, foi incorporado uma quarta classe de genes cuja alteração está associada com as etapas finais da progressão tumoral, os metastogenes e os genes supressores da metástase [2].

Os proto-oncogenes estimulam os processos de divisão celular, enquanto genes supressores inibem. Quando ocorrem mutações, proto-oncogenes tornam-se

oncogenes, os quais induzem a transformação maligna e causam multiplicação celular excessiva (Figura 1.3).

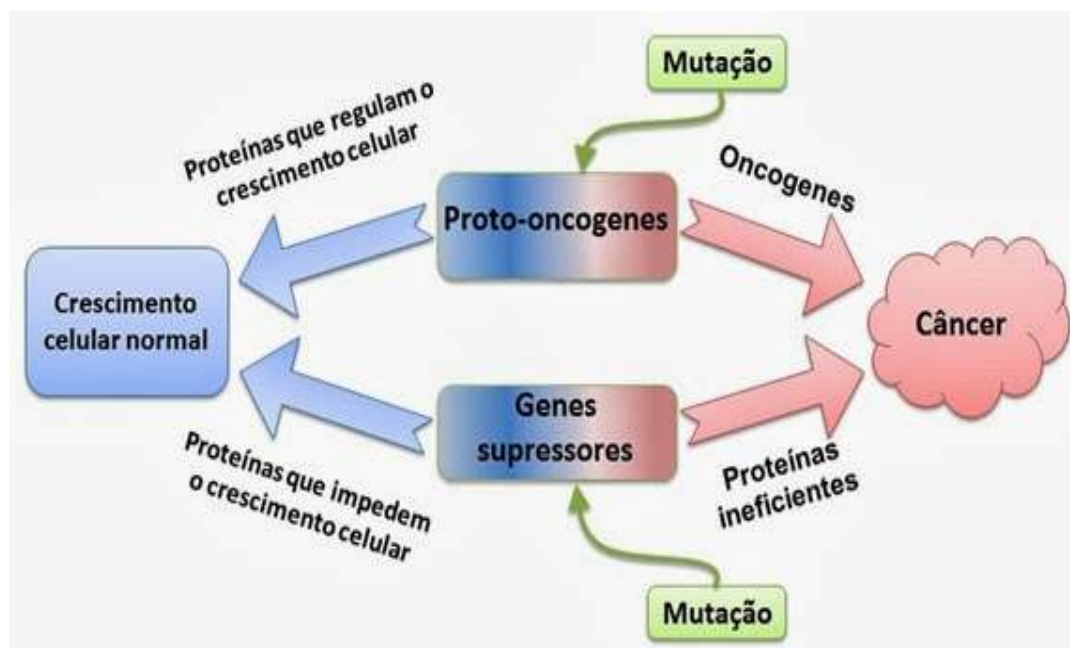


Figura 1.3 - Genes envolvidos no processo da carcinogênese [13].

Essas mutações levam os oncogenes a expressar em excesso sua proteína estimuladora do crescimento ou a produzir uma forma mais ativa. Já os genes supressores de tumores tem a função de codificar proteínas que inibem a formação de tumores. A inativação destes genes supressores funcionais contribui para o desenvolvimento de câncer, pois priva a célula de controles fundamentais para a inibição de crescimento inapropriado [14].

A terceira classe de genes envolvida no surgimento do câncer é constituída pelos genes reparadores de DNA, cuja função é codificar proteínas que devem corrigir os erros que podem ocorrer quando as células duplicam seu material genético, antes de se dividirem. As mutações nestes genes conduzem ao fracasso da reparação de erros no DNA permitindo que esses erros se perpetuem ao passar para as células filhas. A falta de reparação das lesões que ocorrem nos oncogenes ou genes supressores de tumor favorece a acumulação de outras mutações e acelera a progressão tumoral (Figura 1.4) [2].

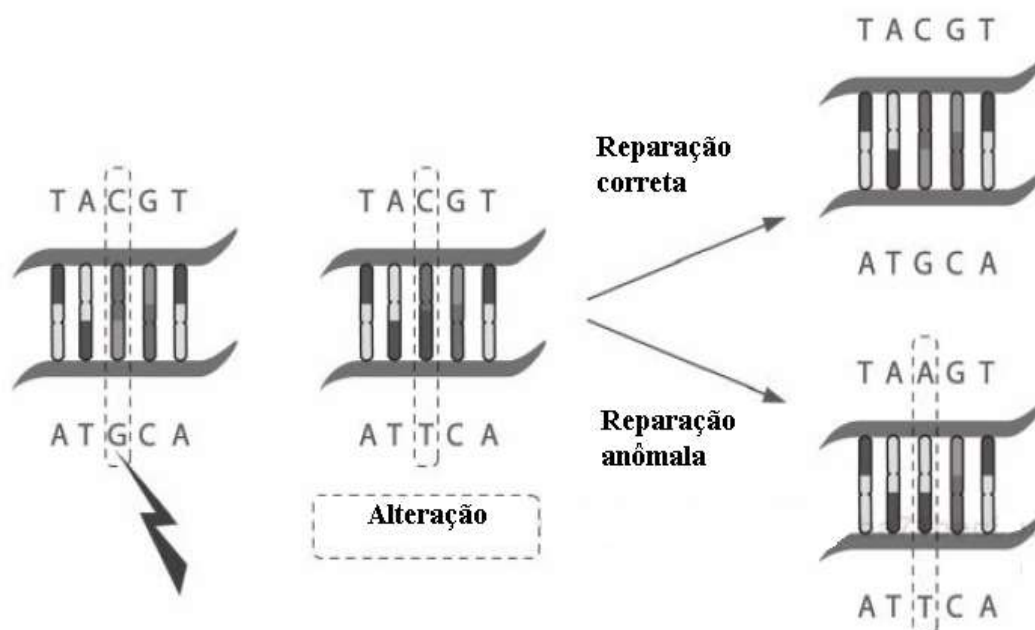


Figura 1.4 - Genes reparadores de DNA. A troca de uma base produz como resultado um erro na cadeia de DNA. Se esse dano é reparado não há consequências para a célula. No entanto, as mutações nos genes reparadores de DNA podem conduzir ao fracasso na reparação do DNA, que por sua vez permite que as mutações subsequentes se acumulem e leve a célula a transformação maligna [2].

Foi descoberto nos últimos anos que a alteração de determinados genes que não estão associados com as etapas iniciais do desenvolvimento tumoral, não afeta o crescimento do tumor primário, mas altera a capacidade do tumor de gerar metástase. Esses genes são denominados metastogênes e genes supressores de metástase e correspondem um oncogênes ou genes supressores associados à disseminação metastática, respectivamente [2].

1.2

Principais características das células tumorais

Nas múltiplas etapas que constituem o processo de carcinogênese cada modificação genética adquirida confere às células tumorais um tipo de vantagem, constituindo assim os hallmarks (características) do câncer. Essas capacidades adquiridas pelas células tumorais durante o desenvolvimento tumoral favorecem sua manutenção e são comuns a todos os tipos de cânceres. Dentre elas podemos destacar a sustentação do sinal de proliferação, a evasão dos supressores de

crescimento, resistência à morte celular, imortalidade replicativa, indução da angiogênese, ativação de mecanismos de invasão e metástases (Figura 1.5) [15].

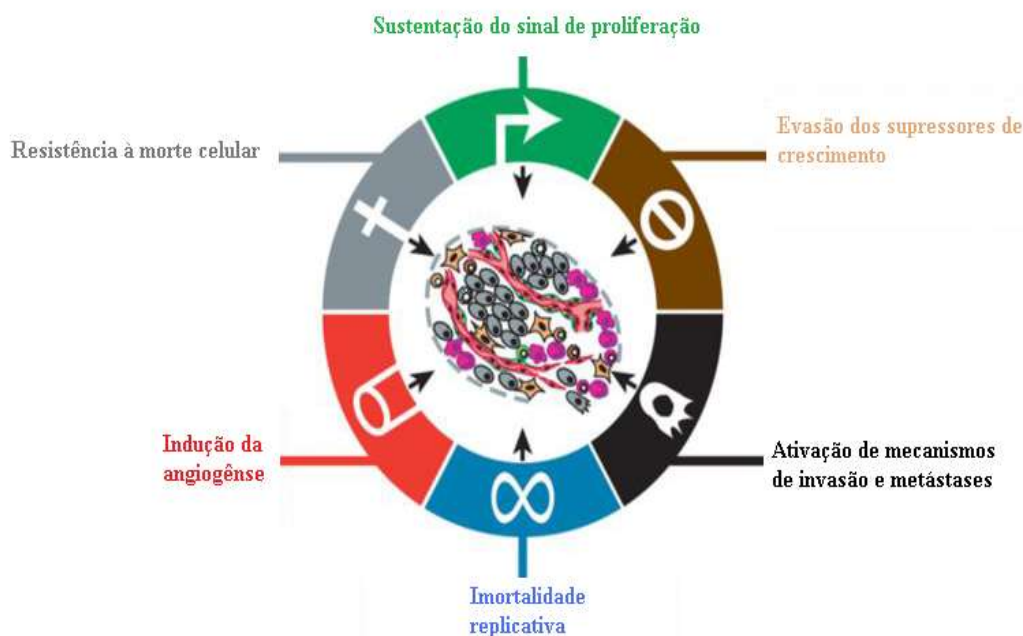


Figura 1.5 - Os *hallmarks* do câncer (Adaptada da referência [15]).

A sustentação do sinal de proliferação e a consequente perda do controle do ciclo celular são características fundamentais e determinantes na formação do tumor. Os pontos de controle ou checagem do ciclo celular têm uma função importante na manutenção da fidelidade e integridade da replicação e reparação do genoma. No ciclo celular existem três estágios onde operam os pontos de controle (Figura 1.6) [16].

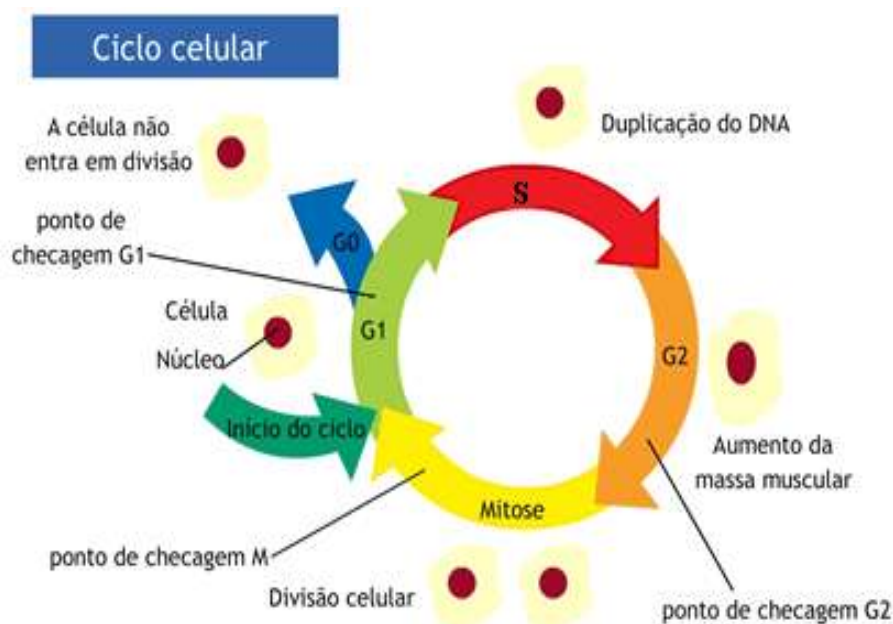


Figura 1.6 - Esquema do Ciclo celular (Adaptada da referência [17]).

O primeiro ponto de controle fica ao final da fase G1 e início da fase S. Nesta etapa a célula aumenta de tamanho e prepara-se para copiar seu DNA. A replicação ocorre na fase seguinte, chamada de S (síntese), e permite que a célula duplique precisamente seus cromossomos. Depois de replicados os cromossomos, inicia-se a fase G2, durante a qual a célula prepara-se para a fase M (mitose), fase na qual a célula-mãe, aumentada, finalmente se divide ao meio, para produzir duas células-filhas, com igual número de cromossomos. As células filhas imediatamente entram em fase G1 e podem reiniciar o ciclo celular ou também podem parar temporária ou definitivamente o ciclo [16, 18].

Uma vez que a célula passe o primeiro ponto de controle (G1/S), ela é obrigada a replicar seu DNA. Caso ocorra cópia incorreta do DNA durante S ou lesão do DNA, a célula não passará o ponto de checagem G2/M, e ocorrerá parada de crescimento (senescência) e apoptose (morte programada) induzidos pelo gene supressor *p53*, o chamado “guardião do genoma”. Este gene é assim conhecido porque frente a um dano no DNA, sua correspondente proteína *p53* detém a divisão celular e estimula sua reparação. Em casos, cujo dano é muito grande e irreparável, a *p53* conduz a célula à morte [2, 13]. O terceiro ponto de checagem ocorre na metáfase (segunda fase da mitose) e a divisão celular só prossegue se os cromossomos estão corretamente presos ao fuso [18].

A maioria das células tumorais apresenta perda do controle do ciclo celular devido a mutações em genes responsáveis por esse controle, permitindo assim que as células cancerígenas atravessem os pontos de restrição e dividam-se, mesmo que as condições requeridas para o processo de divisão celular não sejam cumpridas. As células normais ao sofrerem um dano no DNA se mantêm na fase G1 do ciclo a fim de reparar o dano antes de prosseguirem nas etapas posteriores do ciclo. No entanto, as células cancerosas ignoram os sinais de alarme e continuam o ciclo duplicando o DNA danificado, conduzindo assim a acumulação de mutações [2,16,18].

A aquisição de resistência da morte por apoptose é considerado um evento crítico na carcinogênese e na progressão tumoral maligna. Assim, as mutações sofridas pelas células tumorais as levam a ignorar os sinais de morte e continuar proliferando, aumentando a chance de novas mutações [19,20]. Desta forma, as células transformadas adquirem habilidade replicativa imortal podendo viver indefinidamente, enquanto que as células humanas saudáveis quando cultivadas *in vitro* podem se duplicar de 50 a 60 vezes, desde que seja assegurada a provisão de nutrientes e fatores de crescimento [2].

A expectativa de vida de uma célula é muito dependente do encurtamento dos extremos dos cromossomos, denominados telômeros, que ocorre a cada vez que as células se dividem. Os telômeros marcam o número de divisões celulares, e no momento apropriado, quando se alcança um comprimento limite do telômero, iniciam a senescência e morte celular. A enzima telomerase, cuja função é impedir o encurtamento dos telômeros, encontra-se ativa nas células germinativas e tumorais. Já nas células somáticas, a telomerase encontra-se inativa e sua ativação induz à imortalização celular, evento indispensável para a carcinogênese [21, 22, 23]

Nos estágios iniciais do desenvolvimento de um tumor, quando normalmente tem menos de dois milímetros de diâmetro, a nutrição da massa tumoral ocorre essencialmente por difusão a partir dos tecidos vizinhos. Com o aumento do tumor a nutrição passa a depender de vasos sanguíneos próprios para que não entrem em degeneração e necrose. Desta forma, as células tumorais induzem a produção de fatores angiogênicos para estimular a formação de novos vasos sanguíneos a fim de suprir suas necessidades de nutrientes e oxigênio [24].

A angiogênese é essencial no processo de desenvolvimento e disseminação de tumores e está diretamente relacionada com a metástase tumoral, pois os novos vasos formados servem como vias de disseminação das células malignas para outros focos de colonização [24].

Ao longo do processo de progressão tumoral algumas células adquirem um fenótipo mais agressivo, o que lhes permite invadir tecidos adjacentes e até mesmo de formar metástase à distância. Essas células mais agressivas são denominadas metastáticas e frequentemente apresentam moléculas diferentemente expressas qualitativa e/ou quantitativa comparadas as células ditas não metastáticas. Essas moléculas são fundamentais na disseminação metastática dos tumores e algumas delas tem sua expressão diminuída ou até mesmo abolida nas células metastáticas. A identificação de genes e moléculas que estão associados ao processo de metástase é fundamental para o diagnóstico precoce e a elucidação de novas estratégias terapêuticas [25].

As capacidades adquiridas pelas células cancerosas refletem as características de toda a população de um dado tumor, já que as alterações genéticas indutoras do processo de malignização devem estar presentes na maioria das células tumorais. No entanto, na fase de progressão tumoral, onde se acumulam as alterações genéticas, uma subpopulação celular pode surgir e apresentar uma determinada alteração distinta do restante da massa celular tumoral.

Logo, a população celular tumoral é heterogênea e não são necessariamente todas as células que compartilham as mesmas características. Assim, por exemplo, as células que apresentam capacidade de autorrenovação não são necessariamente as mesmas que apresentam a capacidade de crescimento autônomo sustentado (e que são alvo da quimioterapia convencional); ou, por exemplo, a célula que apresenta capacidade de crescimento autônomo necessariamente não é a mesma célula que tem a capacidade de invadir os tecidos vizinhos [1].

A tabela a seguir apresenta algumas características adquiridas pelas células tumorais (Tabela 1.1) [2, 15].

Tabela 1.1- Algumas características desenvolvidas pelas células tumorais [2,15].

Alterações morfológicas
1- Alterações e variabilidade no tamanho e forma celular 2- Aumento da relação núcleo/citoplasma 3- Aumento do número e tamanho nuclear 4- Alterações no tamanho, morfologia e funcionalidade das mitocôndrias 5- Formação de agregados celulares pouco diferenciados
Trocas genéticas e epigenéticas
1- Aumento da expressão de produtos de oncogenes por mecanismos de ativação 2- Perda de proteínas codificadas por genes supressores de tumor, por deleção ou mutação 3- Alterações na expressão de genes por trocas nos padrões de multiplicação do DNA 4- Instabilidade genética. Ativação de genes capazes de facilitar novas mutações
Alterações das propriedades de sobrevivência e crescimento
1- Aquisição de “imortalidade”. Ativação da telomerase 2- Perda da inibição de crescimento dependente do contato ou da densidade celular. Crescimento empilhado 3- Menor necessidade de nutrientes para sobreviver e crescer 4- Perda do controle do ciclo celular e resistência à morte por apoptose 5- Maior expressão e secreção de fatores do crescimento e de seus receptores

1.3

Causas do câncer

Nas últimas décadas, o câncer ganhou uma dimensão maior, convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. A industrialização e a expansão das cidades são acompanhadas do aumento da exposição do homem a uma crescente lista de agentes com potencial mutagênico e carcinogênico [1]. Aliados, esses fatores explicam a crescente incidência de câncer no Brasil e no mundo. Atualmente, cânceres representam a segunda causa isolada de mortalidade, já que a taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares tem diminuído progressivamente. Estima-se que, em 2020, cânceres serão a primeira causa de morte entre os brasileiros [1, 2].

As causas de câncer são variadas e podem estar relacionadas a fatores extrínsecos e/ou intrínsecos. Os fatores extrínsecos referem-se às causas externas, ou seja, ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de uma determinada sociedade. As causas internas ou fatores intrínsecos estão relacionados à constituição genética do indivíduo, ou seja, são geneticamente pré-determinadas e também estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas, pois o aparecimento do câncer deve ser compreendido como resultando da relação do homem com o ambiente, visto que a predisposição genética só se expressa fenotipicamente a partir da interação do indivíduo com fatores ambientais [2, 10, 11, 26, 27].

Assim, a vulnerabilidade genética e o aumento da exposição aos fatores ambientais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais [2, 10, 11].

Um carcinógeno é um agente capaz de atuar sobre uma célula de forma a provocar alterações que modificam as funções celulares, fazendo com que esta comece a dividir-se de maneira anormal e exagerada, levando a aparição de um tumor. A carcinogênese pode ser classificada, segundo seu agente indutor, em química, física ou viral. As substâncias mutagênicas que iniciam a transformação maligna da célula são chamados iniciadores. Já as que potencializam o efeito carcinogênico dos iniciadores quando aplicados depois destes são conhecidas como promotores [10].

Desde 1971 a Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) avaliou mais de 900 agentes químicos, físicos e biológicos com relação ao risco carcinogênico para o homem. Desses agentes mais de 400 foram divididos em cinco grupos e classificados como carcinogênico, provavelmente carcinogênico ou possivelmente carcinogênico para o ser humano. (tabela 2) [2, 28]

Tabela 1.2 - Classificação de alguns compostos com relação ao risco carcinogênico para o homem [2, 28].

<u>Grupo 1</u> Carcinogênico para o ser humano	Exemplos: aflotoxinas, tabaco, bebidas alcoólicas, benzeno, cádmio, estrógenos, iodo - 131, rádio-224, 226, e 228, radônio-222, radiação X e gama, poeira de madeira.
<u>Grupo 2</u> Esta categoria inclui os agentes com uma série de evidências de carcinogenicidade em humanos e em animais experimentais. Em um extremo estão os agentes com evidência conclusiva positiva para animais, mas inconclusivas em humanos. No outro extremo estão os agentes para que a evidência em humanos não foi avaliada, mas para os quais não há provas suficientes de carcinogenicidade em animais experimentais. Há duas subcategorias, indicando diferentes níveis de evidência.	
<u>Grupo 2 A</u> É provavelmente carcinogênico para o ser humano, ou seja, quando existe evidência limitada de carcinogenicidade em humanos, mas evidências suficientes em animais experimentais.	Exemplos: acrilamida, dimetilsulfato, compostos inorgânicos de chumbo, mostarda nitrogenada, inseticidas não arsenicais, radiação ultravioleta A, B e C.
<u>Grupo 2 B</u> É possivelmente carcinogênico para o ser humano, ou seja, quando existe uma evidência limitada de carcinogenicidade em humanos e menos evidência de carcinogenicidade em animais experimentais. Também pode ser usado quando a evidência de carcinogenicidade em humanos não permite uma conclusão a ser tirada (referido como evidência "insuficiente"), mas não há provas suficientes de carcinogenicidade em animais experimentais.	Exemplos: acetaldeído, benzantraceno, tetracloreto de carbono, 1,4-dioxano, café, nitrobenzeno, campos magnéticos de baixa frequência.
<u>Grupo 3</u> Não é classificado em relação a sua carcinogenicidade para o ser humano. Esta categoria é usada	

mais comumente quando as provas de carcinogenicidade são inadequadas em seres humanos e inadequadas ou limitadas em animais experimentais. Evidências limitadas em animais experimentais significa que a informação disponível sugere um efeito cancerígeno, mas não é conclusivo.

Grupo 4

O agente é provavelmente não carcinogênico para o ser humano. Esta categoria é utilizada quando existe uma evidência sugerindo falta de carcinogenicidade em humanos e em animais experimentais.

A carcinogênese química no homem resulta da exposição a agentes simples ou a misturas químicas complexas presentes no meio ambiente. Os compostos iniciadores podem atuar de forma direta, sem necessitar de transformação química para causar danos ao DNA, ou podem requerer uma conversão metabólica para adquirir seu potencial carcinogênico e por isso são chamados procarcinógenos. Existem alguns agentes carcinógenos que são capazes de atuar como iniciadores e promotores e por isso são ditos carcinógenos completos. Para que a carcinogênese ocorra é necessário que vários eventos adicionais aconteçam, ou seja, que a célula iniciada, a qual possui um DNA danificado, divida-se pelo menos uma vez, para que a alteração seja permanente e hereditária.

Muitas substâncias químicas presentes em nosso cotidiano têm se mostrado capazes de induzir o câncer em sistemas experimentais. Um exemplo disso é a correlação entre o consumo diário de cigarros e o risco relativo de desenvolver câncer de pulmão e outros tumores. Entre as diversas substâncias carcinogênicas que podemos encontrar no tabaco podemos destacar as nitrosaminas, as quais têm ação carcinogênica potente e são responsáveis pelos altos índices de câncer de estômago observados em populações que consomem alimentos com estas características de forma abundante e frequente. Além disso, podemos destacar ainda o benzopireno que é um dos constituintes principais do fumo e que causa mutações específicas nos códons do gene supressor tumoral p53 [26]. Os carcinógenos classificados como físicos possuem uma natureza bastante diversificada e atuam por mecanismos muito variados e complexos. Dentre esta classe de carcinógenos podemos destacar as fibras, polímeros, substâncias inertes e a radiação.

Os exemplos mais notáveis da exposição do homem a carcinógenos físicos, em especial a radiação, foi o ocorrido em Hiroshima e Nagasaki em 1945 e a exposição da usina atômica de Chernobyl em 1986. Os sobreviventes de Hiroshima expostos a raios gama e a nêutrons apresentaram inicialmente leucemia, que tem um período de latência mais curto e posteriormente outros tipos de neoplasias tais como colo, reto, esôfago, pulmão, fígado, pâncreas e mama. Em Chernobyl as pessoas que cresceram à sombra do desastre desenvolveram principalmente câncer de tireoide, devido à ingestão de alimentos contaminados pelo radioisótopo iodo – 131.

Já a carcinogênese viral é o processo pelo qual ocorre a intervenção direta de um vírus, que atuando em conjunto com outros fatores leva a transformação de uma célula sadia em maligna. A tabela a seguir mostra alguns exemplos de vírus relevantes no processo de desenvolvimento tumoral.

Tabela 1.3 - Exemplos de vírus relevantes na carcinogênese em seres humano. Referencia

Vírus	Tipo de Câncer
Vírus do papiloma humano (HPV)	Câncer de colo uterino
Vírus da hepatite B (HBV)	Câncer de fígado
Vírus de Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt
Virus herpes associado a sarcoma de kaposi (HSV-8)	Sarcoma de Kaposi

1.4

A quimioterapia no tratamento do câncer

A quimioterapia antineoplásica ou quimioterapia antitumoral destaca-se como uma forma de tratamento utilizada contra o câncer e consiste no uso de medicamentos para destruir as células malignas que formam um tumor [26, 29].

O tratamento quimioterápico pode ser feito com a aplicação de um ou mais antineoplásicos. Porém, devido à ineficácia apresentada pela monoquimioterapia no combate à maioria dos tumores e a diversidade do mecanismo de ação de cada

medicamento, a poliquimioterapia, ou seja, a utilização de vários tipos de antineoplásicos é mais amplamente aplicada [26].

O objetivo da poliquimioterapia é atingir populações celulares em diferentes fases do ciclo celular utilizando a ação simultânea das drogas e com isso diminuir o processo de resistência aos medicamentos, promovendo assim maior resposta por dose administrada [26].

A prescrição da quimioterapia depende das condições gerais de saúde do paciente, da localização e do tipo do tumor [28, 31] A administração endovenosa é a via mais utilizada para aplicação de medicamentos quimioterápicos e em muitos casos também a quimioterapia é usada em combinação com a cirurgia e a radioterapia. De acordo com a finalidade com a qual é aplicada a quimioterapia pode ser classificada em curativa quando tem o objetivo de controlar completamente o tumor, como nos casos de doença de Hodgkin, leucemias agudas, carcinomas de testículo, coriocarcinoma gestacional e outros tumores.

É dita adjuvante quando é aplicada após a cirurgia curativa, tendo o objetivo de esterilizar células residuais locais ou circulantes, objetivando diminuir a incidência de metástases. É classificada em neoadjuvante ou prévia quando indicada para se obter a redução parcial do tumor, na qual a complementação terapêutica é feita com a cirurgia e/ou radioterapia. Por fim, é dita paliativa quando não tem finalidade curativa e é usada somente com a finalidade de melhorar a qualidade da sobrevivência do paciente. É o caso da quimioterapia indicada para carcinoma indiferenciado de células pequenas do pulmão.

1.4.1

Classificação das drogas antineoplásicas

A quimioterapia tem como meta a destruição seletiva das células tumorais, preservando as normais. No entanto, a maioria dos agentes quimioterápicos lesa tanto as células neoplásicas como as sadias, porém o dano às células malignas é maior do que aos tecidos normais, devido às inúmeras diferenças morfológicas e bioquímicas apresentadas entre elas [31].

Os antineoplásicos apresentam características químicas e mecanismos farmacológicos bastantes distintos. No entanto, o DNA apresenta-se na quimioterapia como um dos principais alvos das drogas antitumorais para matar

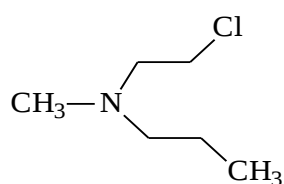
células malignas. Os antineoplásicos podem ser classificados de acordo com sua atuação sobre o ciclo celular, assim os fármacos que atuam nas células que estão ou não no ciclo proliferativo, como por exemplo, as mostardas nitrogenadas, são denominados fármacos ciclo-inespecífico.

Já os antineoplásicos que atuam nas células tumorais que estão atravessando o ciclo reprodutivo são denominados fármacos ciclo-específicos [3, 26, 30]. Existem ainda aqueles que atuam em determinadas fases do ciclo celular, como, por exemplo, o metotrexato (fase S), o etoposídeo (fase G2) e a vincristina (fase M).

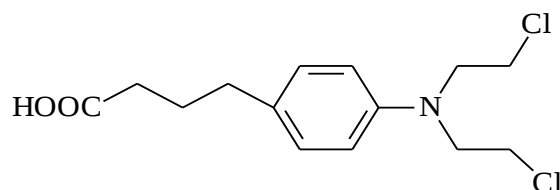
Dentre as diferentes classes de antitumorais os mais comumente usados clinicamente apresentam mecanismo de ação ciclo-inespecífico [6, 7]. Já entre os agentes antineoplásicos os mais empregados no tratamento do câncer incluem os alquilantes polifuncionais, os antimetabólitos, os antibióticos antitumorais e outras drogas que não podem ser agrupadas em uma determinada classe de ação farmacológica.

Os agentes alquilantes são os antineoplásicos mais antigos e mais usados e são conhecidos por agirem direto no DNA e por não serem ativos somente no processo de divisão celular. Esta classe de antitumorais afeta as células em todas as fases do ciclo celular e são capazes de substituir em outra molécula um átomo de hidrogênio por um radical alquil. Eles interagem quimicamente com o DNA de modo a impedir a separação dos dois filamentos do DNA na dupla hélice espiralar, fenômeno que é fundamental para a replicação [26, 30, 32].

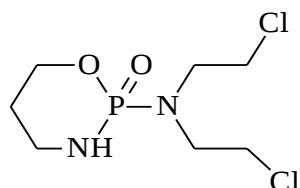
Devido à baixa eficácia clínica da monoquimioterapia com agentes alquilantes o tratamento administrado aos pacientes é normalmente em combinação com outros agentes de fase-específicos do ciclo celular. As principais drogas empregadas dessa categoria incluem as mostardas nitrogenadas, o bussulfam, as nitrosuréias, a cisplatina, o seu análogo carboplatina [26, 33]. A Figura 1.7 apresenta algumas das mostardas nitrogenadas usadas no tratamento do câncer.



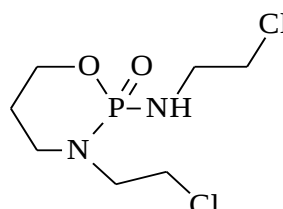
Mecloretamina



Clorambucil



Clorofosfamida



Ifosfamida

Figura1. 7 - Estruturas de algumas mostardas nitrogenadas usadas no tratamento quimioterápico

Os agentes alquilantes capazes de formar diferentes tipos de ligações cruzadas (“Cross - Link”) com as fitas ou filamentos do DNA são chamados bifuncionais. No entanto, aqueles que são capazes de formar ligações cruzadas interfilamentares são particularmente potentes, pois a alquilação de dois filamentos de DNA produzidas por agentes alquilantes bifuncionais, exige mecanismos bastante complexos de reparação (Figura 1.8) [34, 35 e 36].

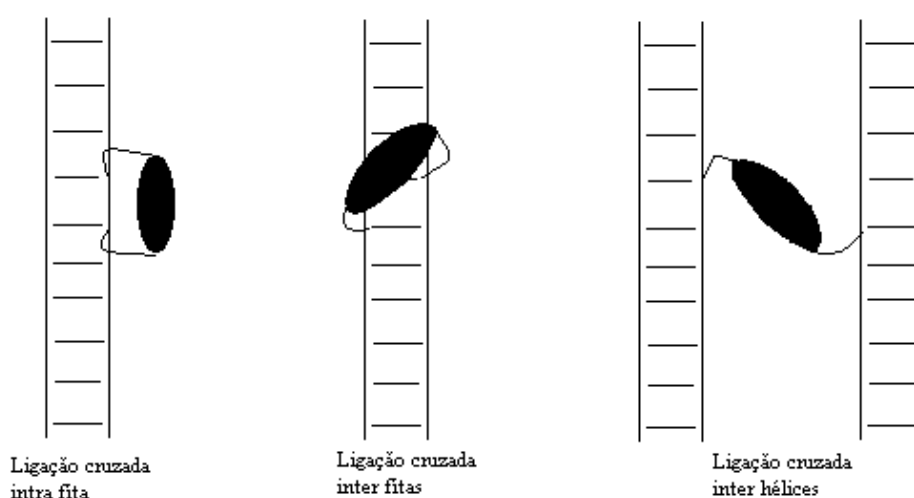


Figura 1.8 - Algumas das ligações cruzadas que podem ocorrer entre um agente alquilante bifuncional e o DNA [30].

A mecloretamina foi um dos primeiros alquilantes usados no tratamento quimioterápico capazes de formar ligações cruzadas interfilamentares com o DNA. Com a exposição de civis e soldados ao gás mostarda durante a Segunda Guerra Mundial o efeito linfotóxico da mostarda nitrogenada, mecloretamina, pode ser identificado. A partir disso, numerosos derivados deste composto foram desenvolvidos e alguns deles tais como Clorambucil, Ciclofosfamida e Ifosfamida são importantes agentes ainda usados no tratamento antitumoral [37, 38].

Muitos anos depois, após a elucidação da estrutura de dupla hélice do DNA, foi estabelecido que as mostardas nitrogenadas bem como outros agentes alquilantes têm como principal sítio de alquilação no DNA a posição N7 da guanina, porém outras bases podem ser menos extensivamente alquiladas, como a adenina nas posições N1 e N3, a citosina no N3 e a guanina no O6, assim como grupos fosfatos e proteínas associadas ao DNA. (Figura 1.9) [39, 40].

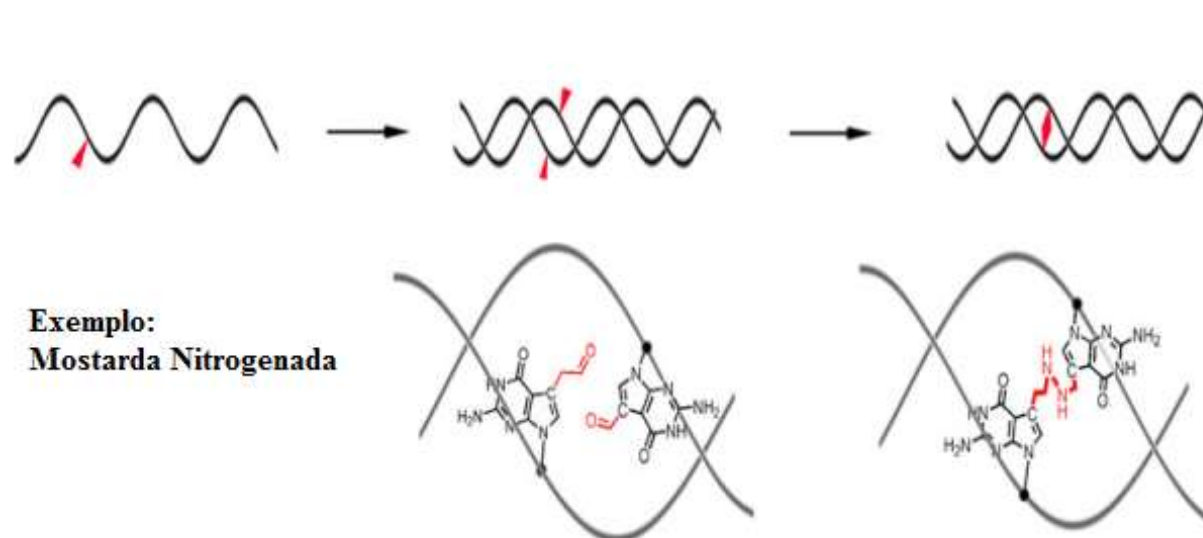


Figura 1.9 - Método para a preparação de ligações cruzadas intercadeias no DNA. Dois precursores de ligações são incorporados no DNA por meio da síntese de DNA na fase sólida e a formação de ligações cruzadas do tipo interfilamentares ocorre através de uma reação seletiva pós-sintética [41].

As células tumorais são mais suscetíveis aos diversos antimetabólicos ou análogos estruturais das bases nitrogenadas, devido às diferenças metabólicas quantitativas em comparação com as células normais. Desta forma os agentes

antimetabólicos são responsáveis por bloquear bioquimicamente a síntese do DNA e assim, são restritos à fase S do ciclo celular.

Dentre os antimetabólicos utilizados clinicamente no tratamento do câncer, podemos citar metotrexato (análogo do ácido fólico), os análogos das purinas, 6-mercaptopurina e a tioguanina e por fim os análogos das pirimidinas, fluorouracil, azauridina e citarabina (Figura 1.10) [40, 41, 42].

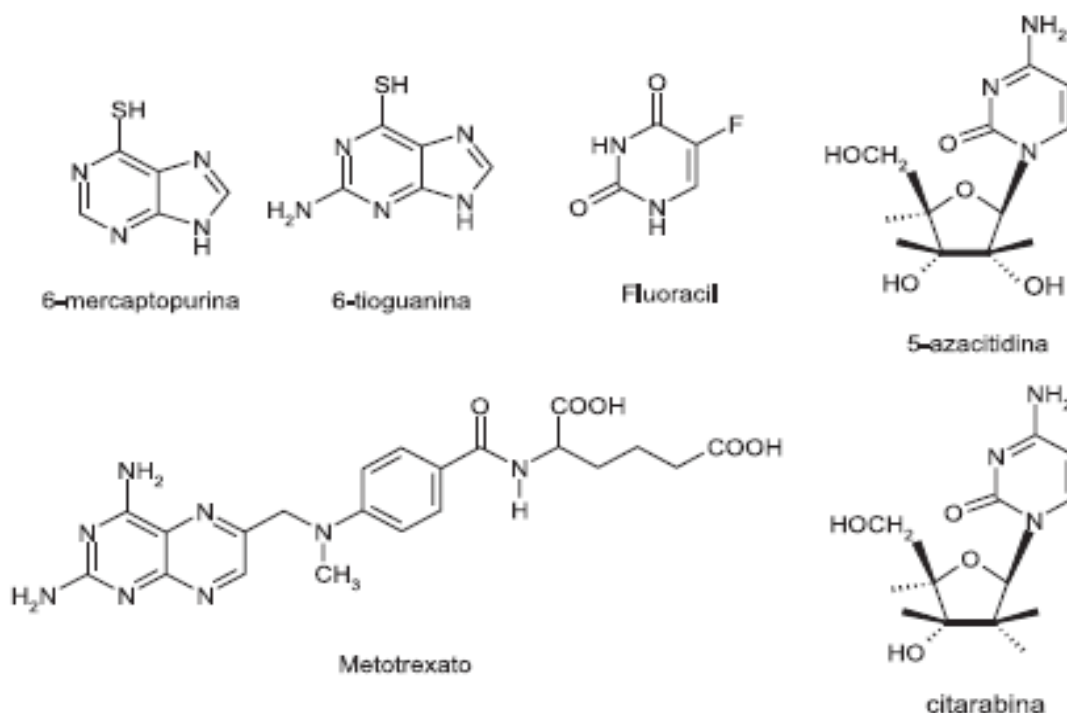


Figura 1.10 - Estruturas de alguns antimetabólitos usados no tratamento de neoplasias [40, 41, 42].

Os antibióticos naturais são um grupo de substâncias com estrutura química variada e que interagem com o DNA por meio da formação de ligações interfilamentares, o que leva ao bloqueio da síntese do DNA e RNA de forma a promover a ruptura dos filamentos da macromolécula (DNA). Esta classe de compostos não atua especificamente sobre uma determinada fase do ciclo celular e apesar de apresentarem variações em suas estruturas, possuem em comum anéis insaturados que permitem a incorporação de excesso de elétrons e a consequente produção de radicais livres reativos. Além disso, podem apresentar outro grupo funcional que lhes acrescenta novos mecanismos de ação, como alquilação (mitomicina C), inibição enzimática (actinomicina D e mitramicina) ou inibição da função do DNA por intercalação (bleomicina, daunorrubicina, actinomicina D e adriamicina e seus análogos mitroxantona e epirrubicina) [26, 30].

1.5

Compostos de coordenação como antitumorais

A habilidade de formar ligações cruzadas intercadeias com o DNA foi demonstrada por uma série de antitumorais incluindo os complexos de platina. Dentre estes compostos, podemos destacar o Cisplatina que foi descoberto acidentalmente em 1965 como um composto com atividade citotóxica, e que é largamente usado no tratamento do câncer [45, 46]. A partir dessa descoberta muitos análogos do Cisplatina foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar e aumentar o arsenal quimioterápico.

O Cisplatina é um composto de coordenação de Pt(II) quadrático plano com dois ligantes cloretos em posição cis. Ao entrar na célula, os dois cloretos são substituídos por duas moléculas de água, produzindo a forma ativa do Cisplatina que é capaz de formar adutos com proteínas, RNA e DNA (Figura 1.11) [47].

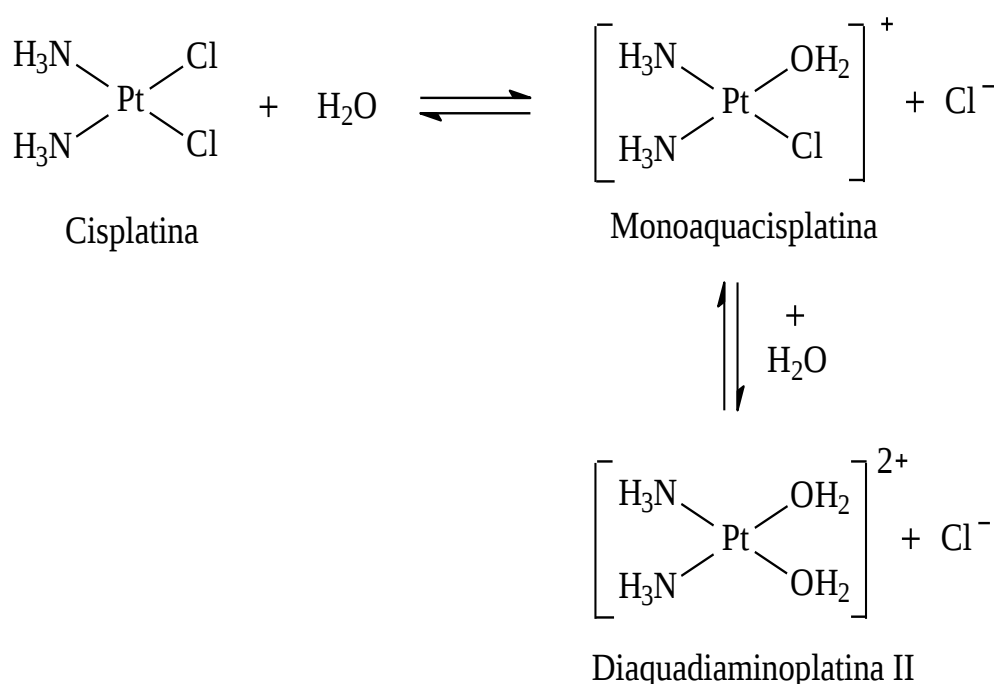


Figura 1.11 – Substituição de ligantes do cisplatina no interior da célula [48].

Como as mostardas nitrogenadas o Cisplatina reage preferencialmente com o N7 do resíduo de guanina formando um monoaduto e subsequentemente

formando ligações cruzadas intra e interfilamentares (Figura 1.12). As interações 1,2 intrafilamentares são formadas com mais frequência do que as 1,3 intrafilamentares e 1,2 interfilamentares que são formadas em menor proporção. As ligações cruzadas intercadeias distorcem severamente a dupla hélice do DNA [47, 49 e 50].

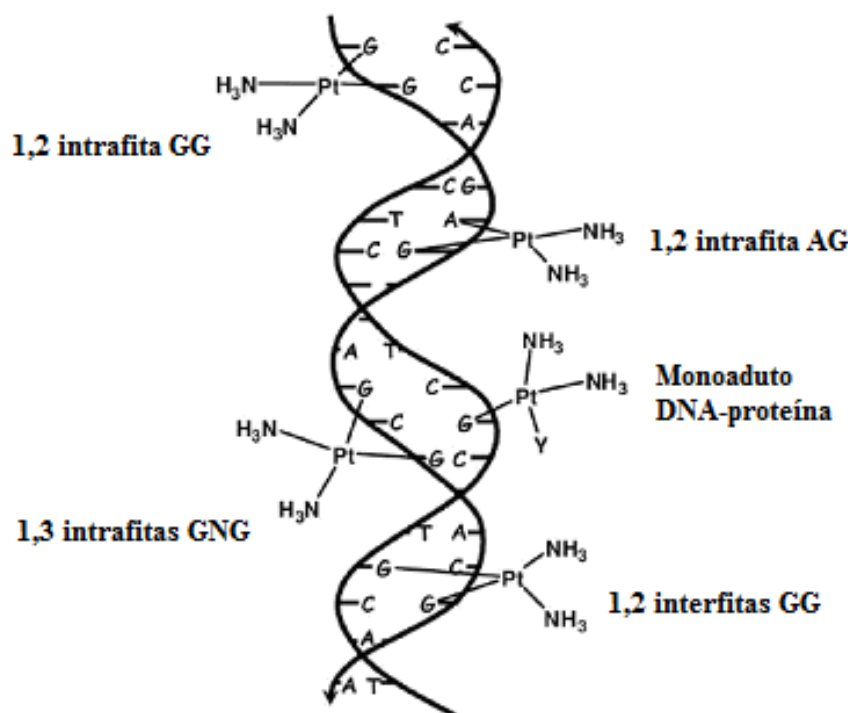


Figura 1.12 - Tipos de adutos formados entre cisplatina e as bases do DNA [51, 52].

O sucesso clínico da cisplatina impulsionou não só o desenvolvimento de fármacos baseados em platina, mas também em outros metais de transição com a expectativa de apresentarem maior eficiência quanto às propriedades farmacológicas, maior viabilidade na administração ao paciente, baixo custo clínico, menos efeitos colaterais e que interajam com o DNA de forma distinta, superando a resistência inerente ou adquirida ao Cisplatina.

Sabendo-se que a cisplatina inibe o crescimento de células cancerígenas ao atuar sobre o DNA, novas frentes de pesquisa empenharam-se em elucidar como os compostos de coordenação interagem com a dupla fita deste biopolímero. Atualmente, sabe-se que essa interação pode ocorrer de diferentes formas: (a) não-

covalente (eletrostática); b) covalente; (c) por intercalação; (d) clivagem por oxidação; (e) clivagem por hidrólise [53].

Agentes oxidantes capazes de clivar o DNA são descritos na literatura como mais ativos que agentes hidrolíticos. Entre os oxidantes podemos destacar a bleomicina, um complexo de Fe(II) capaz de clivar a dupla fita de DNA [54]. Diversos complexos de cobre são também descritos pela habilidade de clivarem o DNA por um mecanismo oxidativo que requer a presença de oxigênio [55]. O melhor exemplo é o complexo $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ (Phen = 1,10-phenantrolina) que cliva o DNA por mecanismos bastante complicados que envolvem a ruptura direta do filamento de DNA através da oxidação do c1'. A Figura 1.13 apresenta a estrutura do complexo $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ [56].

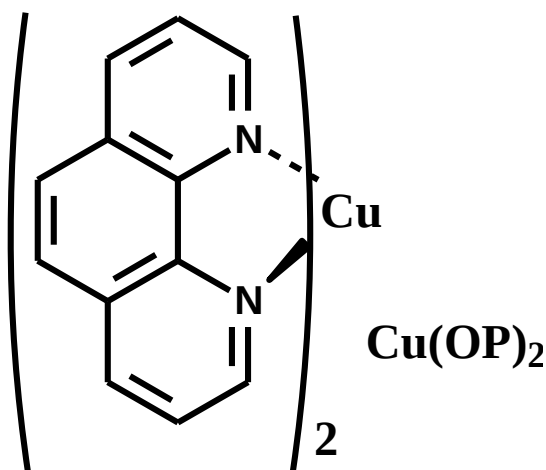


Figura 1.13 - Estrutura do complexo $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ [56].

Embora o relato da capacidade de diversos complexos de cobre de clivarem o DNA via oxidativa, proporcionando estes a serem ativos contra células tumorais é importante enfatizar que os agentes de clivagem oxidativa do DNA não produzem fragmentos consistentes com aqueles produzidos por hidrolases naturais e, assim, os ácidos nucleicos oxidativamente clivados não podem ser enzimaticamente religados [57]. Além disso, a utilização de quimioterápicos com atividade oxidativa sobre o DNA pode resultar na produção descontrolada de espécies radicalares altamente reativas em células saudáveis.

Desta forma, muitos esforços têm sido feitos com a finalidade de desenvolver compostos de coordenação mono-, di- e multi-nucleares capazes de promover a

clivagem do DNA por um mecanismo hidrolítico e em condições fisiológicas, ou seja, compostos que mimetizem as propriedades funcionais das nucleases [58].

Diante do desafio de desenvolver compostos de coordenação mais eficientes e menos agressivos que os compostos de platina é importante considerar que as atividades destes compostos não se deve apenas pela presença do metal, mas também pela influência do estado de oxidação do mesmo, ao número e tipo de ligantes, e a geometria de coordenação do complexo, sendo o principal obstáculo para a clivagem do DNA, a grande carga negativa presente na cadeia deste ácido nucleico, a qual inibe o ataque nucleofílico. A neutralização da carga é um dos vários mecanismos usados pelas nucleases naturais que catalisam a hidrólise da ligação fosfodiéster em 1 segundo [59].

Compostos de coordenação com habilidade para promover a clivagem hidrolítica do DNA (miméticos às nucleases naturais) usualmente possuem, em solução, moléculas de água coordenadas ao sítio metálico que, em pH neutro, podem ser transformadas no íon hidróxido, o qual fará o papel de nucleófilo no processo de clivagem. A geração de um nucleófilo pode se dar ainda através da abstração de um próton por um grupamento básico [59].

As moléculas de água também podem ser substituídas facilmente pelo grupo fosfato da cadeia do DNA, ativando-o para a quebra. A coordenação do fosfato ao metal resulta na diminuição da densidade eletrônica sobre o átomo de fósforo, aumentando assim a sua eletrofilicidade. O aumento da eletrofilicidade do átomo de fósforo faz com que espécies nucleofílicas ligadas ao metal (OH) promovam um ataque sobre o mesmo, resultando em um intermediário penta-coordenado com uma geometria bipirâmide trigonal, o qual sofre clivagem da ligação fósforo-oxigênio. A Figura 1.14 apresenta uma proposta de mecanismo para a clivagem hidrolítica promovida por um composto de coordenação e a Figura 1.15 mostra a diversidade de mecanismos propostos para metalohidrolases binucleares [59, 60, 61].

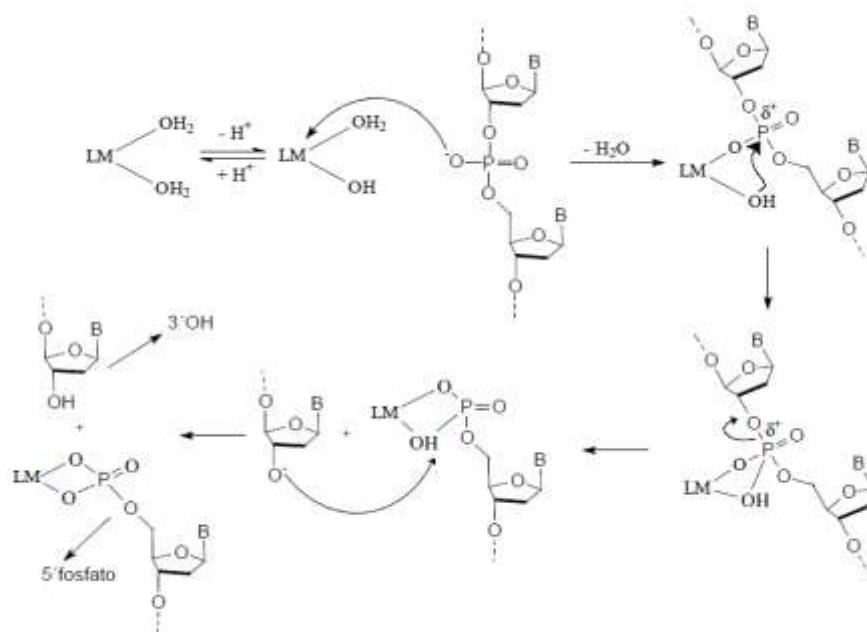


Figura 1.14 - Proposta de mecanismo para a clivagem hidrolítica promovida por composto de coordenação, em que M = metal de transição e L = ligante [60].

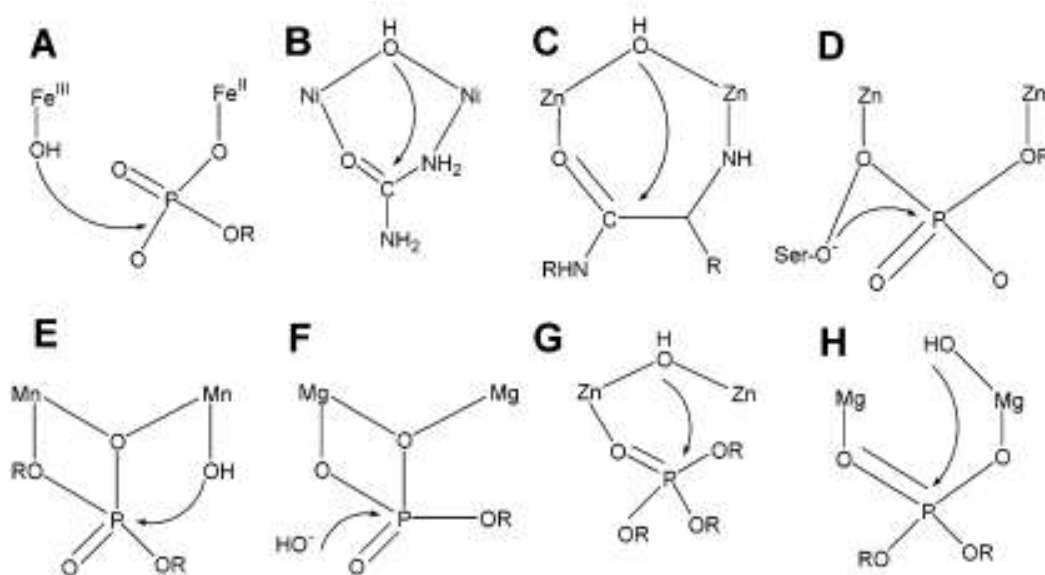


Figura 1.15 - Diversidade de mecanismos propostos para metalohidrolases binucleares. (A) fosfatase ácida púrpura, (B) urease, (C) aminopeptidase leucina, (D) fosfatase alcalina, (E) 3'-5' exonuclease, (F) monofosfatase inositol, (G) fosfotriesterase, e (H) EcoRV endonuclease [61].

Nesse sentido, o presente trabalho visou desenvolver compostos de coordenação que sejam menos tóxicos, mais eficazes e que causem o mínimo de efeitos colaterais ao paciente no tratamento quimioterápico contra o câncer. Para

isso foram utilizados dois ligantes binucleantes um simétrico e outro não-simétrico, ambos contendo como átomos doadores N, O, advindos de braços pendentes contendo grupos, tais como, amida, amina, piridina e fenol. A partir deles foram sintetizados quatro complexos homonucleares e dois heteronucleares. A escolha dos metais visou minimizar a citotoxicidade ao organismo e por isso foram usados metais fisiológicos, encontrados em diversas metaloenzimas do corpo humano. Os esquemas abaixo apresentam as propostas de ligantes e seus respectivos complexos (Figura 1.16).

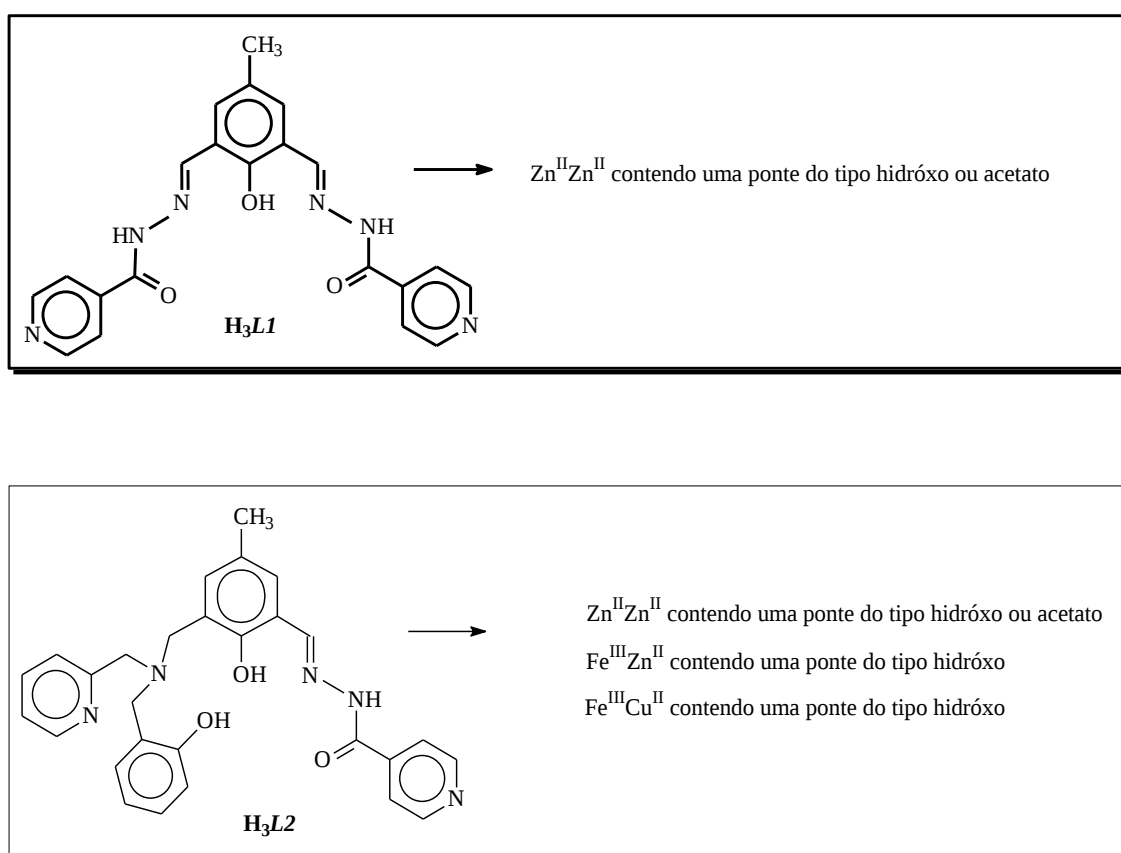


Figura 1.16 - Propostas de sínteses dos ligantes e seus respectivos complexos.