

Redução do cálcio livre no núcleo da célula tumoral: aliado da radioterapia

O surgimento do câncer decorre de etiologia multifatorial com origem na inter-relação de vários fatores, combinando tendências genéticas, ação ambiental, hábitos e estilo de vida, sedentarismo, alimentação inadequada, obesidade, exposição a agentes químicos e/ou físicos além de microrganismos carcinogênicos, sendo o cigarro o principal agente envolvido no câncer de cabeça e pescoço (Rocha & Kagohara, 2004). Os tumores de cabeça e pescoço representam um sério problema de saúde pública no Brasil.

O câncer de boca é o mais prevalente e são estimados mais de 14.000 casos para este ano (disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/>). Raramente um paciente descobre a doença em seu estágio inicial. Na maioria das vezes, os pacientes chegam ao oncologista com tumores em estágio III e IV, são encaminhados para o cirurgião de cabeça e pescoço e depois para a radioterapia e/ou quimioterapia (Moraes *et al.*, 2004). Após o tratamento, graves complicações e sequelas são achados comuns, reduzindo de forma significativa a qualidade de vida dos pacientes (Andrade & Viana, 2006).

Apesar de os protocolos terapêuticos serem universais e apresentarem boa resposta, entre 30% e 50% dos pacientes têm novo tumor em cinco anos (Moraes *et al.*, 2004). Por essa razão, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas em todo o mundo na tentativa de melhorar as terapias existentes.

Experimentos envolvendo cultivo celular se tornaram uma importante ferramenta no estudo do comportamento da célula cancerígena, bem como na busca de novas formas de tratamento. O cultivo de células tumorais humanas permite a avaliação dos efeitos diretos e indiretos das radiações ionizantes sobre as células, incluindo radiorresistência e radiosensibilidade. Porém, os modelos experimentais tradicionais não reproduzem integralmente os efeitos da radioterapia sobre o comportamento celular por não levarem em consideração parâmetros usados nos protocolos clínicos.

O desenvolvimento de um sistema *in vitro* que se aproxime das condições clínicas de tratamento é a forma mais desejável para o estudo dos efeitos da radiação X sobre as células tumorais submetidas à radioterapia. No nosso estudo, conseguimos criar uma estratégia em que as células humanas do carcinoma escamoso são irradiadas, num sistema *in vitro*, utilizando um esquema de fracionamento diário de doses de raios X, seguindo as mesmas orientações prescritas para um paciente com tumor de cabeça e pescoço (Scaff, 1997; Salvajoli *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2004). Os resultados mostram que, mesmo recebendo radiação X diariamente, as células continuam se reproduzindo, similarmente ao que ocorre em pacientes com recorrência da doença após o tratamento radioterapêutico.

“Investigamos na nossa pesquisa o efeito da ação terapêutica que combina a redução do cálcio livre no interior do núcleo das células tumorais com a radioterapia, em carcinoma de células escamosas”

Desde a descoberta do retículo nucleoplasmático (Echevarria *et al.*, 2003) (organela localizada no interior do núcleo das células, cuja função é armazenar o íon cálcio e liberá-lo para o nucleoplasma mediante estímulos específicos), vários grupos de pesquisa vêm estudando sistematicamente as funções celulares reguladas pelo cálcio nuclear. Demonstramos, por exemplo, que o cálcio livre no interior do núcleo das células é responsável pela indução da proliferação celular, e quando a concentração desse íon no nucleoplasma é reduzida, a taxa de proliferação de células tumorais hepáticas é também diminuída (Rodrigues *et al.*, 2007).

Baseados nesses achados, investigamos na nossa pesquisa o efeito da associação terapêutica que combina a redução do cálcio livre no núcleo das células tumorais com a radioterapia, em carcinoma de células escamosas. Para reduzir a concentração do cálcio livre no nucleoplasma utilizamos a estratégia de terapia gênica, por meio de um adenovírus construído em nosso laboratório. Essa construção adenoviral induz as células tumorais a expressar uma proteína capaz de aprisionar o cálcio dentro de compartimentos nucleares, reduzindo assim a concentração desse íon livre no nucleoplasma.

Os resultados mostraram que essa associação da radioterapia com a terapia gênica diminuiu a sobrevivência das células tumorais em 90%, demonstrando-se melhor que as duas estratégias usadas separadamente. Um dos mecanismos se deve ao fato de a terapia gênica empregada ter sido capaz de prevenir a ativação de genes responsáveis pela proliferação das células tumorais que, em certos casos, o tratamento radioterápico por si só pode induzir, como, por exemplo, o receptor do fator de crescimento epidérmico.

Além disso, esse resultado foi alcançado com cerca de metade da dose acumulada em um ciclo

de radioterapia. Outro resultado importante encontrado no nosso estudo foi que a estratégia de terapia gênica empregada não afetou a proliferação de células saudáveis adjacentes às células tumorais, indicando maior susceptibilidade das células tumorais ao aprisionamento de cálcio no núcleo e certa segurança para células normais em relação ao uso dessa terapia gênica. Os resultados alcançados nesse estudo indicam que o aprisionamento do cálcio nuclear nas células tumorais pode ser um aliado da radioterapia (Andrade *et al.*, 2012).

Esse projeto de pesquisa foi integralmente desenvolvido por pesquisadores brasileiros, financiado por agências nacionais de fomento à pesquisa, como CNPq, Capes e Fapemig, e pela agência americana Howard Hughes Medical Institute (HHMI). As perspectivas dos pesquisadores são bastante promissoras em relação aos futuros segmentos dessa pesquisa até que possam ser implementados protocolos usando terapia gênica associada à radioterapia para futuros testes clínicos. ■

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, L.M., Viana, A.M.F.C. Estudo das Complicações Pós-Radioterapia para o Tratamento de Tumores de Cabeça e Pescoço para o Aumento da Qualidade de Vida. *Rev. Dentística On line*, Santa Maria - RS, v. 14, n.7, p. 31-37, 2006.

Andrade, L.M., Geraldo, J.M., Gonçalves, O.X. et al. Nucleoplasmic Calcium Buffering Sensitizes Human Squamous Cell Carcinoma to Anticancer Therapy. *J. Can. Sci. Therapy*; 4(5): 131-139, 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2012: Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/>> Acesso em: 14-11-2012.

Echevarria W, Leite Mf, Guerra MT, et al. Regulation of calcium signals in the nucleus by a nucleoplasmic reticulum. *Nat Cell Biol*; 5(5):440-446, 2003.

Moraes, E.D., Lessa, G.S. Angra, I. et al., Tumores de Cabeça e Pescoço In: Guimarães, J.R.Q. *Manual de Oncologia Clínica*, São Paulo: BBS, 2004. p.429-55.

Rocha, J.C.C, Kagohara, L.T. Oncogenética e Farmacogenética In: Guimarães, J.R.Q. *Manual de Oncologia*. São Paulo: BBS, 2004.p.37-44

Rodrigues, M. A., Gomes, D.A., Leite, M.F. et al., Nucleoplasmic Calcium Is Required for Cell Proliferation* *The J. Biol.Chem.* v. 282, n. 23. 2007. p. 61-68.

Salvajoli, J.V., L. Souhami, S.L Faria, *Radioterapia em Oncologia*, São Paulo: MEDSI, 1999, p.1243.

Scaff, L.M., *Física da Radioterapia*. São Paulo: Sarvier, 1997. p.351.

Silva, J.L.F., Arruda, F.F. Radioterapia nos tumores de cabeça e pescoço. Aspectos gerais In: Guimarães, J.R.Q. *Manual de Oncologia Clínica*, São Paulo: BBS, 2004. p.475-88.