

A ESTÓRIA BIOMOLECULAR DO PÓLIPO ADENOMATOSO

MAURO DE SOUZA LEITE PINHO¹

¹*Disciplina de Clínica Cirúrgica da UNIVILLE e Departamento de Cirurgia do Hospital São José, Joinville, Santa Catarina, SC*

PINHO MSL. A estória biomolecular do pólipo adenomatoso. **Rev bras Coloproct**, 2005;26(2):197-203

RESUMO: Um dos principais objetivos do estudo da biologia molecular é compreender os mecanismos bioquímicos capazes de determinar o comportamento biológico das células em seus respectivos tecidos conforme observado à microscopia e macroscopia. A análise histológica da mucosa colônica normal nos mostra que esta é uma estrutura essencialmente dinâmica, com uma grande rotatividade em suas células, a qual é determinada pela concentração nestas células das proteínas que atuam sobre o controle do ciclo celular. Dentre estas, a proteína APC é aparentemente um elemento chave, promovendo a inibição da ação estimulante sobre as divisões celulares exercida por outras proteínas de grande relevância, como a beta-catenina e a survivina. Além de representar a marca genotípica da polipose adenomatosa familiar, a mutação da proteína APC parece desempenhar uma função de gatilho nos processos de desequilíbrio proliferativo observado no processo neoplásico colorretal, o qual pode variar desde a formação de um pequeno adenoma (ou carcinoma intramucoso) até o desenvolvimento de neoplasias invasivas avançadas. A utilização da imunistoquímica nos permite demonstrar esta relação entre as concentrações de proteínas e o aspecto histológico, representando uma importante ferramenta para um conhecimento cada vez melhor do processo de carcinogênese colorretal.

Descritores: neoplasia colorretal, biologia molecular, imunistoquímica

INTRODUÇÃO

Um dos principais objetivos do estudo da biologia molecular é compreender os mecanismos bioquímicos capazes de determinar o comportamento biológico das células em seus respectivos tecidos conforme observado à microscopia e à macroscopia.

Considerando-se que este comportamento biológico é causado principalmente pela interação entre um grande número de proteínas que são expressas a partir do próprio DNA celular, compreende-se que

estes estudos visam correlacionar a presença ou não de determinada(s) proteína(s) com as respectivas ações celulares ou arranjos estruturais de tecidos.

Tal princípio tem norteado as pesquisas na biologia molecular do câncer, possibilitando não apenas a avaliação prognóstica tumoral a partir da análise do espécime cirúrgico, mas também possibilitando o desenvolvimento de medicações capazes de influir no metabolismo tecidual de forma específica como a atuação sobre receptores de membrana celular ou bloqueio da angiogênese.

Trabalho realizado na Disciplina de Clínica Cirúrgica da UNIVILLE e Departamento de Cirurgia do Hospital São José, Joinville, Santa Catarina, SC

Recebido em 04/05/2006

Aceito para publicação em 04/06/2006

Um dos aspectos mais característicos do câncer colorretal é apresentar-se na maior parte dos casos como o resultado de um processo evolutivo a partir de pólipos neoplásicos da mucosa colônica, inicialmente de natureza benigna e não invasiva, denominados como adenomas ou carcinomas intramucosos, dependendo da classificação adotada pelo médico patologista.

Na verdade, esta evidente evolução de uma mucosa normal até o surgimento de um carcinoma invasivo passando por um espectro de alterações morfológicas microscópicas e macroscópicas possibilitou o desenvolvimento de uma das principais bases do estudo da biologia molecular do câncer, em especial devido à existência da polipose adenomatosa familiar, doença na qual estas alterações podem ser observadas em grande volume e em diferentes estágios coexistentes em um mesmo paciente.

Entretanto, antes da análise das anormalidades ocorridas na mucosa intestinal torna-se necessária a compreensão de que a mucosa colônica, assim como os epitélios em geral, são tecidos dotados de uma dinâmica especial bastante ativa, a qual tem como base a necessidade de reposição constante de novas células em sua superfície afim de substituir aquelas perdidas em um contínuo processo de autodestruição pela apoptose.

Visando fornecer subsídios para uma melhor compreensão dos pólipos adenomatosos intestinais e

sua participação no processo de surgimento do câncer colorretal, o objetivo deste texto será apresentar alguns aspectos referentes ao estado atual dos estudos da correlação entre os achados histológicos e biomoleculares observados em sua estrutura, quando comparada àquela existente em uma mucosa normal.

A DINÂMICA NORMAL DA MUCOSA INTESTINAL

Conforme demonstrado na Figura 1, a mucosa colônica é composta por criptas dispostas de forma vertical, paralelas entre si e entremeadas por um tecido denominado como lâmina própria. Inferiormente à linha correspondente ao posicionamento das bases das criptas iremos observar a camada muscular da mucosa, abaixo da qual encontraremos na submucosa um tecido rico em vasos sanguíneos e linfáticos.

AS CRIPTAS E SUA ATIVIDADE PROLIFERATIVA

A análise mais detalhada da histologia destas criptas nos mostrará que suas células apresentam um padrão característico, o qual pode ser melhor compreendido a partir de uma hipotética subdivisão em três áreas distintas, conforme demonstrado na Figura 2:

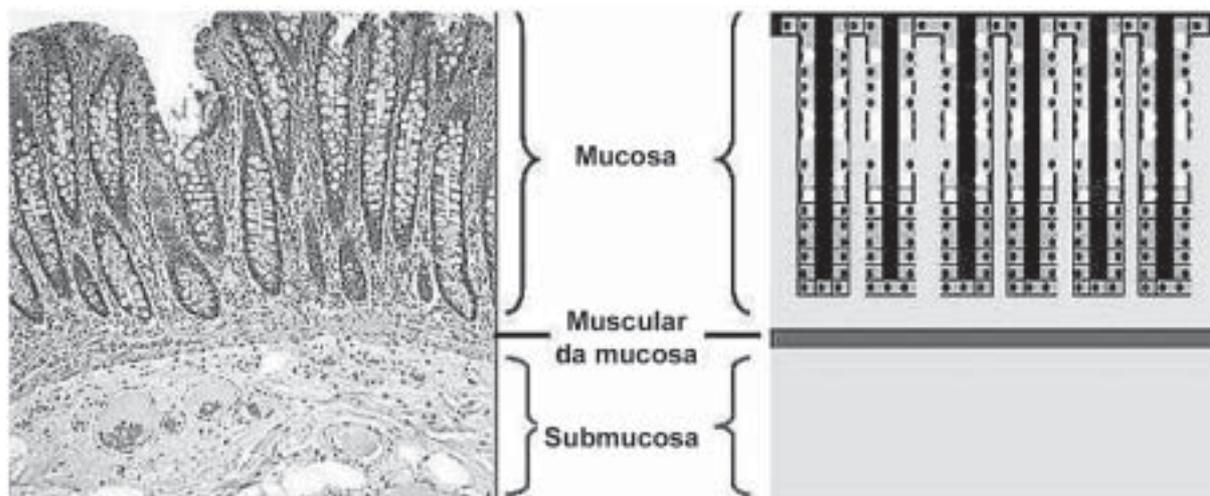


Figura 1 – O epitélio colônico normal

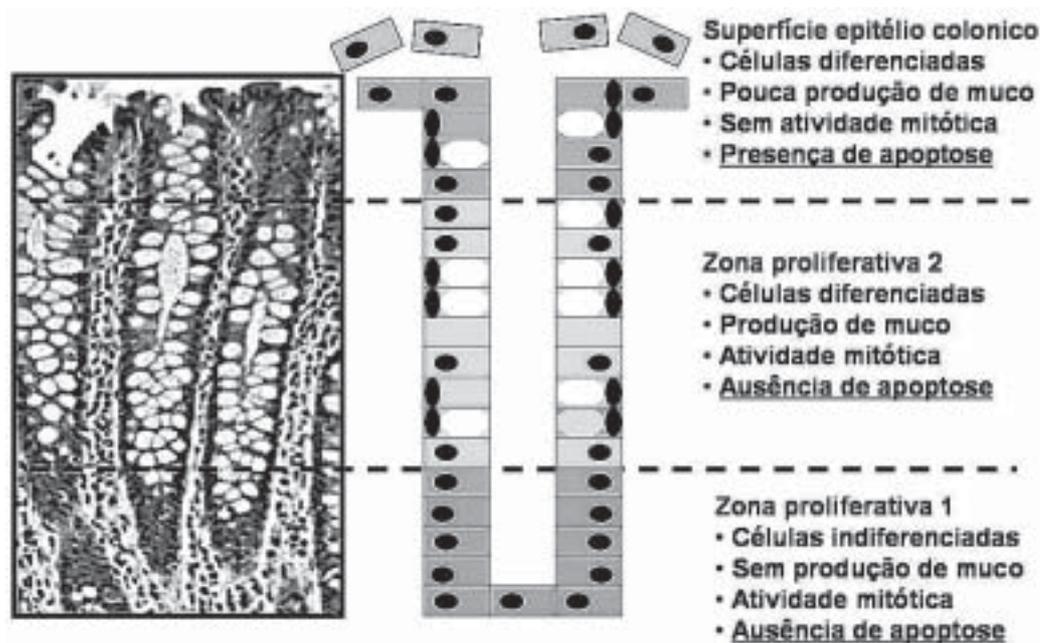


Figura 2 – A atividade proliferativa da cripta normal

a. Zona proliferativa 1 – Situada na parte mais inferior das criptas, as células desta região apresentam-se predominantemente ainda indiferenciadas, sem o aspecto característico das células da mucosa intestinal, com ausência de células caliciformes em consequência de uma baixa produção de muco. Do ponto de vista proliferativo, estas células apresentam uma elevada frequência de mitoses e ausência de apoptoses, demonstrando sua importante função na produção de novas células, as quais irão progressivamente ascender ao longo da cripta em direção à superfície da mucosa.

b. Zona proliferativa 2 - Ocupando predominantemente a região média da cripta, observamos nesta zona células com padrão histológico típico dos colonócitos, com produção de muco representada pela presença de múltiplas células caliciformes e a polaridade dos núcleos dispostos de forma uniforme na base das células, próximo à sua fixação à membrana basal. Em relação à atividade proliferativa, esta persiste de forma ativa, sendo ainda encontrado um alto número de mitoses e ausência de morte celular apoptótica.

c. Superfície epitelial – Nesta região mais superficial da cripta, junto à luz intestinal, iremos observar ainda a presença de colonócitos típicos,

embora com redução gradual da produção de mucina. O achado mais importante nesta região, no entanto, é a presença de uma inversão do padrão proliferativo celular em relação àquele observado na base da cripta, com acentuada redução da atividade mitótica e a ocorrência de morte celular programada (apoptose) em um grande número de células, seguida de descamação para a luz intestinal.

Ao analisarmos em conjunto estas três regiões, compreendemos que ocorre uma atividade dinâmica permanente nas criptas intestinais, caracterizada pelo surgimento de novos colonócitos na base da cripta, a partir das células indiferenciadas (células tronco), os quais irão sofrer um processo de maturação gradual ao longo de sua ascensão até atingir a luz intestinal. Tendo completado esta evolução de forma completa, durante a qual esteve exposta aos agentes agressores deste epitélio e o conseqüente risco de lesão em seu DNA nuclear, esta célula irá desencadear o processo de auto-destruição não inflamatório característico da apoptose que levará à sua descamação na luz intestinal. Durante este período, não deverá ocorrer qualquer atividade de divisão celular a fim de evitar o surgimento de uma linhagem de células-filhas capazes de herdar eventuais mutações em seu DNA.

Estima-se que este ciclo de surgimento, maturação e morte das células nas criptas ocorra em um período compreendido entre três a oito dias, e que em consequência disto o epitélio colônico sofra um processo de renovação a cada três a quatro dias.

PÓLIPOS ADENOMATOSOS: O DISTÚRPIO PROLIFERATIVO

O surgimento dos pólipos adenomatosos, também descritos como carcinomas intramucosos pelos defensores da classificação japonesa, é consequência de uma alteração da dinâmica proliferativa em relação à mucosa normal, conforme descrito acima.

Nestes casos, pode-se observar à microscopia um crescimento da zona proliferativa 1, ocorrendo então uma perda progressiva do padrão característico da zona proliferativa 2 com a consequente substituição dos colonócitos normais por células pouco diferenciadas e redução acentuada da produção de mucina, como demonstrado na Figura-3.

Além deste crescimento da zona proliferativa com um aumento do número de mitoses e o consequente surgimento de novas células, uma outra alteração irá ocorrer na extremidade superior da cripta,

onde iremos observar uma redução do número de apoptoses (Figura-4).

Como consequência destas duas alterações proliferativas simultâneas caracterizadas por uma maior produção de novas células na cripta e redução da morte celular epitelial, iremos observar um progressivo acúmulo destas células ao nível da superfície mucosa (Figura-5), inicialmente evidenciado apenas à microscopia. A progressão deste acúmulo celular consequente ao desequilíbrio proliferativo irá finalmente dar origem a um pólipo macroscopicamente identificável através de exames endoscópicos.

OS MECANISMOS BIOMOLECULARES DO EQUILÍBRIO PROLIFERATIVO

Conforme dito anteriormente, as atividades celulares são determinadas pela ação de proteínas, as quais podem atuar a partir de sua presença no interior da célula ou mediante contato externo a esta, com receptores existentes em sua membrana, os quais, por seu turno, podem desencadear efeitos intracelulares através de uma seqüência de reações em cascata.

O grande número de estudos a respeito dos aspectos biomoleculares do câncer colorretal e seus

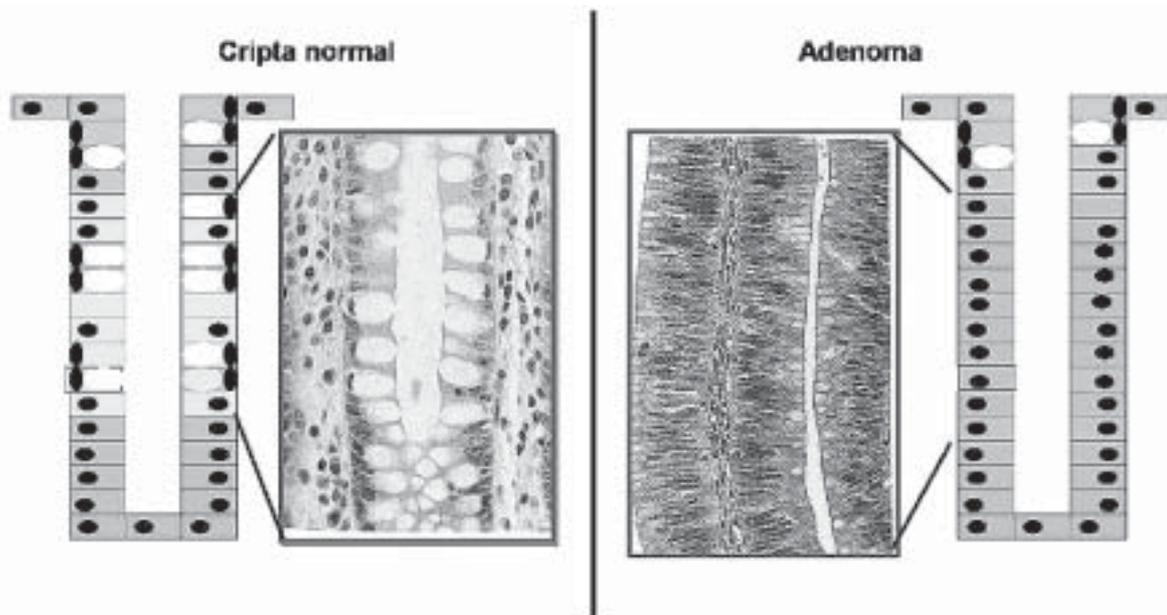


Figura 3 – O distúrbio proliferativo no pólipo adenomatoso

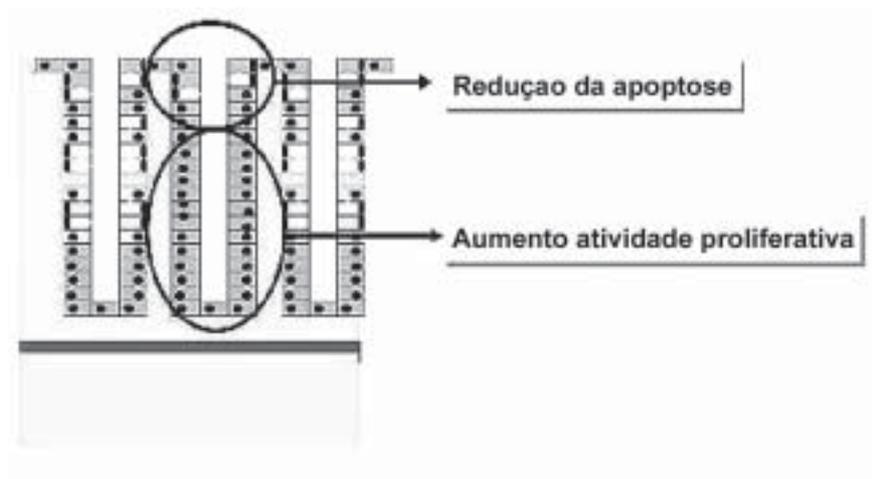


Figura 4 - Alterações proliferativas no pólipo adenomatoso

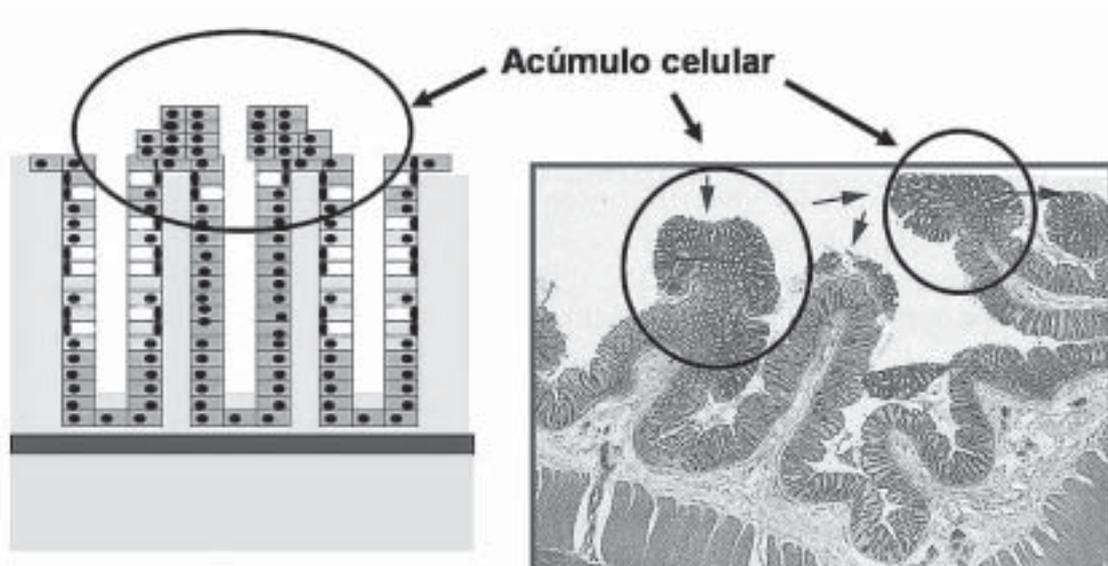


Figura 5 - Acúmulo de células epiteliais na formação do pólipo adenomatoso

precursores tem permitido a identificação de diversas proteínas, as quais exercem um importante controle sobre a atividade proliferativa das células da mucosa colônica.

Para melhor compreensão dos mecanismos biomoleculares responsáveis pelo equilíbrio proliferativo desta mucosa, faremos a seguir uma breve revisão de algumas proteínas consideradas como principais controladoras do ciclo celular:

PROTEÍNA APC: O FIO DA MEADA

Um achado de grande relevância para a compreensão da biologia molecular do câncer colorretal foi a identificação de uma proteína cuja alteração é considerada como um “gatilho” para o surgimento de distúrbios proliferativos na mucosa colônica, sejam estes no estágio de pólipos adenomatosos ou carcinomas invasivos. Por ter sido

inicialmente identificada em pacientes portadores de polipose adenomatosa familiar, esta proteína, assim como seu respectivo gene, foi denominada como APC (Adenomatous polyposis coli). Estudos posteriores confirmaram que mutações desta proteína APC estão presentes em cerca de 80% dos adenomas em fase inicial, mesmo em pacientes não portadores de polipose familiar, sendo esta mutação considerada hoje como a alteração mais precoce no processo de carcinogênese da mucosa colônica, motivo pelo qual é a ela atribuída a função de “guardiã” (“gatekeeper”).

Embora as diversas funções da proteína APC estejam ainda em fase de melhor definição, existem fortes evidências de que estas são relacionadas a dois aspectos principais: adesão e proliferação celular.

Em relação à sua participação no equilíbrio proliferativo da mucosa colônica, a proteína APC exerce, em condições normais, uma importante função supressora através da inibição da divisão celular. Considerando-se a dinâmica do epitélio colônico apresentado acima, torna-se então compreensível a demonstração por diversos autores de uma elevada concentração da proteína APC na parte alta das criptas, e sua ausência nas células situadas na base destas. Esta disposição tecidual é portanto bastante compatível com a elevada proliferação na base das criptas e com a morte celular observada na superfície epitelial.

Para melhor compreender o mecanismo pelo qual a proteína APC atua na inibição da divisão celular, torna-se necessário o conhecimento sobre outra proteína de grande relevância no controle proliferativo do epitélio colônico, denominada como beta-catenina.

BETA-CATENINA: O ESTÍMULO À DIVISÃO CELULAR

Um crescente número de estudos tende a atribuir a esta proteína uma função central no equilíbrio proliferativo da mucosa colônica e, por extensão, ao próprio mecanismo da carcinogênese colorretal.

Tais conceitos representam uma mudança em relação à impressão inicial de que a função da beta-catenina restringia-se à adesão entre células, motivada por sua participação em um complexo no qual representava um elemento de ligação com uma proteína transmembrana, denominada como e-caderina. Estudos mais recentes, no entanto, demonstram que além desta forma relacionada à membrana, a beta-catenina pode

ainda ser observada em uma forma livre no citoplasma e ainda no interior do núcleo. Além disto, foi demonstrado que a redução dos níveis celulares da proteína APC está associada a uma elevação da concentração nuclear da beta-catenina, a qual, por seu turno, representa um importante estímulo à divisão celular. Este estímulo proliferativo é conseqüência da ação positiva da beta-catenina para a expressão nuclear de outras proteínas que desempenham um importante papel na divisão celular, como a ciclina D1, gastrina, c-myc, COX-2 e MMP-7, sendo estas duas últimas claramente relacionadas à angiogênese e à invasão estromal, respectivamente.

SURVIVINA

Esta é outra proteína cujo papel no controle do ciclo celular na mucosa colônica e no mecanismo de carcinogênese colorretal vem ganhando uma crescente relevância. Sua função está relacionada ao controle do ciclo celular, no qual desempenha uma ação inibidora da apoptose, conferindo à célula portanto uma sobrevivência mais prolongada. Assim sendo, é perfeitamente compreensível a observação em estudos de imunistoquímica da mucosa colônica normal de uma presença expressiva da survivina nos colonócitos situados na base da cripta intestinal, onde a atividade proliferativa é intensa e sua ausência nas células situadas na porção superior da cripta, onde a apoptose torna-se necessária para o equilíbrio tecidual. Assim como a beta-catenina, a expressão celular de survivina é também inibida pela presença da proteína APC, embora não esteja ainda bem definido o mecanismo relacionado a esta ação repressora.

Resumindo, podemos ver então que a mucosa colônica é uma estrutura essencialmente dinâmica, com uma grande rotatividade em suas células, a qual é determinada pela concentração nestas células das proteínas que atuam sobre o controle do ciclo celular. Neste sentido, a proteína APC é aparentemente um elemento chave, promovendo a inibição da ação estimulante sobre as divisões celulares promovidas pela beta-catenina e pela survivina.

A utilização da imunistoquímica nos permite demonstrar esta relação entre as concentrações de proteínas e o aspecto histológico, representando uma importante ferramenta para um conhecimento cada vez melhor do processo de carcinogênese colorretal.

SUMMARY: One of the main objectives of molecular biology studies is the understanding of biochemical mechanisms which will ultimately contribute to biological behavior of tissues as observed by macroscopic or microscopic analysis. Hystological examination of normal colonic mucosa shows a relevant cellular turnover, determined by local concentration of proteins related to circle cell control. Among these proteins, APC seems to be a key element, promoting inhibition of other important circle cell stimulating proteins as beta-catenin and survivin. Thus, besides its role as genotypic landmark in familiar polipose patients, there are several strong evidences that APC acts in a trigger function in proliferative disorders of colonic mucosa from small adenomas to advanced infiltrative carcinomas. The current use of immunohistochemistry has provided relevant information of this close relationship between cellular protein profile and histological findings and have contributed to an improved comprehension of colorectal cancer carcinogenesis.

Key words: colorectal neoplasm, molecular biology, immunohistochemistry

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberts e cols. Fundamentos da Biologia Celular, Artmed, 1999
2. Lodish e cols. Biologia Celular e Molecular, Revinter, 2002
3. Pinho M. Biologia Molecular do Câncer, Revinter, 2005
4. Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin—a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol.* 2002 Feb;160(2):389-401
5. Zhang T, Otevrel T, Gao Z, Gao Z, Ehrlich SM, Fields JZ, Boman BM. Evidence that APC regulates survivin expression: a possible mechanism contributing to the stem cell origin of colon cancer. *Cancer Res.* 2001 Dec 15;61(24):8664-7.
6. Sellin JH, Umar S, Xiao J, Morris AP. Increased beta-catenin expression and nuclear translocation accompany cellular hyperproliferation in vivo. *Cancer Res.* 2001 Apr 1;61(7):2899-906.
7. Daidone MG, Costa A, Frattini M, Balestra D, Bertario L, Pierotti MA. Letter. *Cancer Res.* 2004 Jan 15;64(2):776-7
8. Lamprecht SA, Lipkin M. Migrating colonic crypt epithelial cells: primary targets for transformation. *Carcinogenesis.* 2002 Nov;23(11):1777-80.

Endereço para correspondência:

MAURO PINHO
Rua Palmares,380
89203-230 Joinville - SC