

MARCADORES MOLECULARES COMO FATORES PROGNÓSTICOS DO CÂNCER COLORRETAL

MAURO DE SOUZA LEITE PINHO – TSBCP

PINHO MSL - Marcadores Moleculares como Fatores Prognósticos do Câncer Colorretal. *Rev bras Coloproct*, 1999; 19(2): 130-132

Apesar do grande número de estudos realizados ao longo das últimas décadas o câncer colorretal permanece representando um grande desafio para o cirurgião. Embora bastante promissores, os inegáveis avanços obtidos na compreensão dos diferentes aspectos envolvidos em sua fisiopatologia ainda não lograram contribuir de forma significativa para uma melhora dos níveis de recorrência da doença e sobrevida dos pacientes.

Diante da impossibilidade de oferecer novas alternativas terapêuticas efetivas, grande parte da pesquisa em câncer colorretal hoje realizada tem por objetivo definir parâmetros que possam reduzir o índice de imprevisibilidade dos resultados. Acreditam os autores que uma vez estabelecido um valor prognóstico para os diversos aspectos envolvidos no câncer colorretal estaremos em condições de orientar de forma mais específica o tratamento de cada paciente em particular, além de representar um caminho decisivo para o completo conhecimento da fisiopatologia da doença.

Dispomos hoje de informações a respeito de um grande número de fatores com possível valor prognóstico no câncer colorretal, destacando-se entre estes o estadiamento tumoral pelas classificações de Dukes, Astler-Coller ou TNM e a análise do comprometimento da margem lateral do tumor. A análise criteriosa destes fatores nos permite situar o paciente como sendo de maior ou menor risco em relação à probabilidade de recidiva tumoral. Entretanto, apesar do constante aprimoramento das formas de estadiamento tumoral observamos ainda um elevado grau de imprevisibilidade de resultados, demonstrando uma necessidade do melhor conhecimento dos elementos determinantes da evolução da neoplasia. Como exemplo, podemos citar os tumores colorretais classificados como Dukes B, que apresentam, segundo a média dos estudos na literatura, uma sobrevida média entre 70 a 80%, sendo no entanto bastante difícil a detecção de quais pacientes estarão entre os 20 a 30%, que provavelmente apresentarão recidiva da doença.

Nos números anteriores desta Seção apresentamos uma revisão dos conceitos atuais sobre a carcinogênese colorretal e as principais proteínas envolvidas neste processo. A partir destes conceitos pudemos compreender que o câncer colorretal é o resultado de mutações nos genes que codificam estas proteínas. Como estas mutações ocorrem de forma sequencial à medida que a neoplasia colorretal progride, a

análise das proteínas envolvidas na carcinogênese colorretal poderá nos fornecer informações a respeito do estágio molecular do tumor com possíveis consequências para o prognóstico do paciente.

O objetivo da presente Seção será apresentar uma breve revisão sobre o estado atual de conhecimentos sobre o valor prognóstico das principais proteínas envolvidas na carcinogênese colorretal:

Proteína p53 - Tema principal de grande número de pesquisas atualmente, a proteína p53 é hoje considerada como um elemento chave na carcinogênese devido à sua função supressora de tumores através da detecção e correção de mutações genéticas. Sucessivos estudos tem sido realizados em tumores colorretais buscando correlacionar a presença de mutações da proteína p53 e o prognóstico do paciente¹⁻⁷. Esta pesquisa de mutações pode ser realizada através da análise direta do DNA pela técnica de PCR, pela identificação de acúmulo de proteína mutada pela imunohistoquímica ou pela sorologia para verificar a presença de anticorpos anti-p53 mutado, encontrando-se níveis de positividade entre 40-60% no câncer colorretal. A maior parte destes trabalhos sugere que pacientes em cujos tumores foi detectada a presença de mutações da proteína p53 apresentam menores índices de sobrevida, confirmando um significativo valor prognóstico negativo independente para esta mutação. Este valor prognóstico pode ainda ser melhorado se analisado em conjunto com outras variáveis como a presença de linfonodos ou pesquisa de outras mutações associadas. A despeito destes achados, existem ainda questionamentos a respeito do valor de sua aplicabilidade clínica no momento. Outra importante linha de estudo a respeito da proteína p53 diz respeito ao seu papel na efetividade do tratamento quimioterápico. Confirmando a hipótese de que esta proteína é considerada essencial para a indução da apoptose em células comprometidas pela quimioterapia, diversos trabalhos tem demonstrado uma redução da quimiosensibilidade em tumores portadores de mutações no gene p53. Estas evidências sugerem a necessidade de uma pesquisa destas mutações como importante elemento na seleção e estratégia no tratamento complementar no câncer colorretal.

Proteína k-ras - Esta é outra proteína envolvida na sequência de mutações relacionadas à carcinogênese colorretal. Sendo um elemento da transdução do sinal membrana-núcleo com função de estímulo à proliferação celular (proto-oncogene), sua mutação poderá levar a um estado de constante estimulação à divisão celular, alterando

o equilíbrio entre produção e morte celular e contribuindo para o desenvolvimento da neoplasia. Suas alterações podem ser detectadas através da imunohistoquímica ou pela análise do DNA amplificado pela técnica de PCR. Assim como em relação à proteína p53, diversos estudos tem demonstrado uma redução significativa da sobrevida em pacientes portadores de câncer colorretal com alterações da proteína k-ras, concluindo pelo seu valor prognóstico independente⁸⁻¹¹. É importante destacar que dois tipos de mutações específicas no gene codificador da proteína k-ras (12-TGT e 13-GAC) apresentam um pior prognóstico potencial. Cerottini e cols⁸ encontraram uma sobrevida de dois anos de 37% em portadores de câncer colorretal com pelo menos um destes dois genes mutados comparados com 67% de sobrevida em pacientes nos quais não foi observada qualquer mutação na proteína k-ras. Ratto e cols¹¹ demonstraram ainda outro importante potencial uso da proteína k-ras na detecção precoce de câncer colorretal através da pesquisa de mutações em células exfoliadas pelas fezes.

Proteína DCC (Deleted in Colorectal Cancer) - Esta é uma proteína de crescente importância na carcinogênese colorretal. Sua função normal está relacionada à comunicação e à fixação entre as células e sucessivos estudos demonstram que sua desativação através de mutação representa um evento tardio no processo de carcinogênese¹²⁻¹⁵. Dentre todos os marcadores moleculares para o câncer colorretal, a proteína DCC apresenta-se possivelmente como a de maior potencial para aplicabilidade clínica uma vez que sua inativação tem sido relacionada a um significativo aumento do potencial metastático tumoral com redução significativa da sobrevida dos pacientes. Shibata e cols¹² encontraram uma significativa redução da sobrevida de cinco anos de pacientes com carcinomas colorretais DCC-negativos quando comparados a tumores DCC-positivos tanto nos casos estágio II (61% x 94%) quanto nos casos estágio III (33% x 59%). Resultado semelhante foi recentemente descrito por Saito e cols¹³, os quais encontraram uma sobrevida de cinco anos de 91% em tumores DCC-positivos comparados a 58.8% em tumores DCC-negativos. A relação entre a desativação tumoral da proteína DCC e uma maior incidência de metástases hepáticas tem também sido relatada por outros autores.

Pesquisa de instabilidade dos microssatélites - Microssatélites são sequências repetidas ao longo da molécula de DNA que não apresentam função de codificar proteínas e cujo significado não está ainda bem claro. Estas sequências devem ser idênticas em todas as células do organismo e a demonstração, através do método de PCR, que as células tumorais apresentam sequências microssatélites alteradas sugerem que os mecanismos de reparo de mutações encontram-se alterados, permitindo assim que tais mutações ocorram de forma descontrolada. Esta condição é denominada instabilidade de microssatélites e representa uma indicação de que este paciente pode pertencer a uma família com câncer hereditário não polipóico (HNPCC)¹⁶. Esta doença está associada a um defeito dos genes de reparo do DNA (também denominados como positivo para erros de replicação ou RER+) e ocorre mais frequentemente em

pacientes jovens, predominantemente em colon direito, ricos em mucina e com baixo grau diferenciação. Paradoxalmente estes pacientes apresentam uma evolução mais favorável, sendo observados estes aspectos também em alguns pacientes que apresentam tumores com características semelhantes embora não pertencentes a famílias portadoras de câncer hereditário não-polipóico, compreendendo aparentemente 10-15% do total de tumores malignos colorretais. Assim sendo, as evidências atuais sugerem que a presença de instabilidade de microssatélites pode estar relacionada a um prognóstico mais favorável. Lukish e cols¹⁷ enfatizaram a importância deste exame ao relatar uma sobrevida de cinco anos de 68% em 17 pacientes jovens com tumores RER+ comparada a 32% nos 19 pacientes cujos tumores não demonstravam a instabilidade de microssatélites. Estes números são extremamente favoráveis e sugerem a necessidade de realização de novos estudos.

Assim sendo, embora o estado atual dos marcadores moleculares no diagnóstico e avaliação do câncer colorretal não autorize ainda sua utilização clínica de rotina, existem claras evidências de que ao longo dos próximos anos os estudos de biologia molecular representarão avanços significativos na compreensão dos mecanismos envolvidos na carcinogênese, oferecendo perspectivas bastante favoráveis no sentido de uma melhor determinação da história natural dos tumores e na determinação das respectivas condutas terapêuticas.

REFERÊNCIAS

1. Takeda A, Nakagima K, Shimada H, Imaseki H, Takayama W, Hayashi H, Suzuki T, Ochiai T, Isono K. Clinical significance of serum p53 antibody detection on chemosensitivity assay in human colorectal cancer. *J Surg Oncol* 1999 Jun;71(2):112-6.
2. Zheng M, Wang H, Zhang H, Ou Q, Shen B, Li N, Yu B. The influence of the p53 gene on the in vitro chemosensitivity of colorectal cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1999;125(6):357-60
3. Tortola S, Marcuello E, Gonzalez I, Reyes G, Arribas R, Arza G, Sancho FJ, Peinado MA, Capella G. p53 and K-ras gene mutations correlate with tumor aggressiveness but are not of routine prognostic value in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1999 May;17(5):1375-81
4. Kressner U, Inganas M, Byding S, Blikstad I, Pahlman L, Glimelius B, Lindmark G. Prognostic value of p53 genetic changes in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 1999 Feb;17(2):593-9
5. Yamamura T, Matsuzaki H, Suda T, Ozasa T, Tsukikawa S, Yamaguchi S. Clinicopathological variables and p53 overexpression as a combined prognosticator for hematogenic recurrence in colorectal cancer. *J Surg Oncol* 1999 Jan;70(1):1-5.
6. Finkelstein SD, Przygodzki R, Pricolo VE, Sakallah SA, Swalsky PA, Bakker A, Lanning R, Bland KI, Cooper DL. Prediction of Biologic Aggressiveness in Colorectal Cancer by p53/K-ras-2 Topographic Genotyping. *Mol Diagn*. 1996 Jun;1(1):5-28
7. Kressner U, Glimelius B, Bergstrom R, Pahlman L, Larsson A, Lindmark G. Increased serum p53 antibody levels indicate poor prognosis in patients with colorectal cancer. *British J Cancer* 1998;77: 1848-51
8. Cerottini JP, Caplin S, Saraga E, Grivel JC, Benhattar J. The type of K-ras mutation determines prognosis in colorectal cancer. *Am J Surg* 1998; 175:198-202
9. Sun XF, Ekberg H, Zhang H, Carstensen JM, Nordenskjold B. Overexpression of ras is an independent prognosis factor in colorectal adenocarcinoma. *APMIS* 1998;106:657-64
10. Lee JC, Wang ST, Lai MD, Lin YJ, Yang HB. K-ras gene mutation

- is a useful predictor of the survival of early stage colorectal cancers. *Anticancer Res.* 1996 Nov-Dec;16(6B):3839-44.
11. Ratto C, Flamini G, Sofo L, Nucera P, Ippoliti M, Curigliano G, Ferretti G, Sgambato A, Merco M, Doglietto GB, Cittadini A, Crucitti F. Detection of oncogene mutation from neoplastic colonic cells exfoliated in feces. *Dis Colon Rectum* 1996;39:1238-44.
 12. Shibata D, Reale Ma, Lavin P, Silverman M, Fearon ER, Steele G Jr., Jessup JM, Loda M, Sumerhayes IC. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1996;335:1727-32.
 13. Saito M, Yamaguchi A, Goi T, Tsuchiyama T, Nakagawara G, Urano T, Shiku H, Furukawa. Expression of DCC protein in colorectal tumors and its relationship to tumor progression and metastasis. *Oncology* 1999;56:134-41.
 14. Goi T, Yamaguchi A, Nakagawara G, Urano T, Shiku H, Furukawa K. Reduced expression of deleted colorectal carcinoma (DCC) protein in established colon cancers. *Br J Cancer* 1998;77:466-71.
 15. Gao S, Xu W, Wan Y. Loss of heterozygosity involving DCC gene in human colorectal cancers is correlated with the metastatic potential. *Chung Hua Chung Liu Tsa Chih* 1996;18:250-2.
 16. Rossi BM, Pinho M. Tumores colorretais hereditários. In: *Genética e Biologia Molecular para o Cirurgião*. Rossi e Pinho, Lemar. São Paulo, 1999.
 17. Lukish JR, Muro K, Denobile J et al. Prognostic significance of DNA replication errors in young patients with colorectal cancer. *Ann Surg* 1998;227:51-6.