O POTENCIAL DO PROTEOMA NA TERAPIA CELULAR ONCOLÓGICA

Giovanna Guimarães Lombardi[1]

[1]E-mail: gilombardi22@gmail.com

Resumo

A análise proteômica vem se tornando cada vez mais estudada, sendo caracterizada como a era "pós-genômica". Essa relevância se dá por ser um biomarcador em potencial, indicando uma descoberta, como de novas moléculas bioativas, por exemplo, e/ou esclarecendo processos metabólicos através de seus produtos. Diferente do genoma de um organismo, que permanece relativamente estável ao longo da vida, o proteoma é caracterizado como extremamente variável e dinâmico. A terapia celular através dos proteomas também ganha reconhecimento, especialmente em terapias oncológicas e neurológicas por possuírem um caráter individual para cada diagnóstico. A análise dessas macromoléculas torna possível saber se e quando um produto genético foi expresso, sua concentração relativa e as modificações que podem ocorrer nessas proteínas após sua tradução. O potencial da terapia celular oncológica é em relação ao conhecimento da dinâmica de sinalização de uma célula cancerígena, que é um dos principais fatores que favorecem seus processos patológicos e metastáticos. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho é elucidar a especificidade dessa análise para os avanços da medicina personalizada, refletindo diretamente na medicina preventiva. O estudo será realizado através de uma revisão sistemática da literatura através das bases de dados eletrônicas SciELO (Scientific Electronic Library Online), PubMed e Clinical trials. Serão incluídos os seguintes termos de busca: "Proteoma" OR "Proteômica" IN "Terapia Celular" AND "Biomarcadores" IN "Câncer" OR "Oncologia" e seus correspondentes em inglês. Serão excluídos da pesquisa artigos que não tenham disponível nos idiomas Inglês e Português, assim como artigos que não tenham seus resumos e/ou suas versões completas disponíveis nas bases de busca.

Palavras-chave: "Proteoma"; "Proteômica"; "Biomarcadores"; "Terapia Celular"; "Câncer" e "Oncologia".

Abstract

Proteomic analysis has become increasingly studied, being characterized as the "post-genomic" era. This relevance is due to it being a potential biomarker, indicating a discovery, such as new bioactive molecules, for example, and/or clarifying metabolic processes through their products. Unlike an organism's genome, which remains relatively stable throughout life, the proteome is characterized as extremely variable and dynamic. Cellular therapy through proteomes also gains recognition, especially in oncological and neurological therapies as they have an individual character for each diagnosis. The analysis of these macromolecules makes it possible to know if and when a genetic product was expressed, its relative concentration and the modifications that may occur in these proteins after translation. The potential of oncological cell therapy is in relation to knowledge of the signaling dynamics of a cancer cell, which is one of the main factors that favor its pathological and metastatic processes. Therefore, the objective of this work is to elucidate the specificity of this analysis for advances in personalized medicine, directly reflecting on preventive medicine. The study will be carried out through a systematic review of the literature through the electronic databases SciELO (Scientific Electronic Library Online), PubMed and Clinical trials. The following search terms will be included: "Proteome" OR "Proteomics" IN "Cell Therapy" AND "Biomarkers" IN "Cancer" OR "Oncology" and their English counterparts. Articles that are not available in English and

Portuguese will be excluded from the search, as well as articles that do not have their abstracts and/or full versions available in the search databases.

Keywords: “Proteome”; “Proteomics”; “Biomarkers”; “Cellular Therapy”; “Cancer” and “Oncology”.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma das doenças mais complexas da humanidade, por se tratar de uma patologia com diversos mecanismos de ação e processos moleculares individuais (Tanase,et al. 2015).[1] De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), é uma das principais causas de mortalidade no mundo por possuírem propriedades extremamente progressistas como o potencial metastático, com milhões de novos casos diagnosticados a cada ano. Esse diagnóstico compromete tecidos e funções fisiológicas e consequentemente qualidade de vida do paciente.[17]

As pesquisas acerca dessa patologia são um desafio global de saúde pública, a partir do ponto de vista de sua complexidade biológica. É através desse aspecto que os estudos da proteômica ganham visibilidade dentro da oncologia, se tornando um instrumento indispensável para novas descobertas de tratamentos, além de possibilitar melhor entendimento sobre a resistência de terapias e o monitoramento de sua eficácia (Tanase,et al. 2015). [1]

O Projeto Genoma Humano (PGH), que teve início em 1989 e conclusão em 2003, nos permitiu explorar as informações atreladas à genética, através das sequências específicas do conjunto de nucleotídeos (Adenina com Timina e Citosina com Guanina) na dupla-hélice do nosso DNA. Entretanto, possibilitou estudos limitados pelo genótipo possuir um caráter relativamente estável, por mais que os avanços dessa área estejam em constante desenvolvimento, como no reconhecimento da epigenética (Góes e Oliveira, 2014). [3]

O termo “proteoma” se refere ao conjunto de proteínas expressas por um organismo, célula ou tecido. A proteína se trata de um produto da decodificação genética, inicialmente esse processo é chamado de “*Transcrição*” e consiste na duplicação da sequência genética contida em uma das fitas de DNA através do RNA mensageiro (RNAm). Posteriormente, dá início a outro processo denominado “*Tradução*”, que com a ajuda de organelas como os ribossomos (rRNA), traduz essa fita única de RNA em aminoácidos específicos (Santos e Nascimento, 2019).[18]

Isto é, o proteoma oferece uma visão dinâmica dos produtos genéticos expressos decorrentes de diversos fatores e nesse estudo daremos enfoque à oncologia. A importância dessa correlação se dá por conseguirmos identificar essas macromoléculas como possíveis biomarcadores para essa doença, conferindo tanto as propriedades do tumor, quanto às alterações no microambiente como consequência dessa interação (Kondo, 2014).[16]

As proteínas plasmáticas já possuem um histórico extenso de pesquisas científicas. Possuem propriedade como biomarcadores para indicar disfunções fisiológicas, por exemplo, através da albumina, globulinas e fibrinogênio, que já auxiliam o médico na decisão clínica, tanto para definir o prognóstico, quanto para o diagnóstico e tratamento. O estudo da proteômica tem como objetivo ampliar essas possibilidades (Geyer, et al. 2019).[2]

Recentes estudos também indicam o potencial do proteoma tecidual humano como possível fonte geracional dos biomarcadores, diferenciados em níveis como secretoma humano, o proteoma cancerígeno, o proteoma metabólico e o associado à administração de medicamentos (Liang e Chan, 2007; Kondo, 2014).[20,16]

A técnica utilizada nessa análise inicialmente é a eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida ou cromatografia líquida multidimensional. Essas técnicas permitem a "separação" das moléculas para maior especificidade dos estudos das amostras. Enquanto a espectrometria de massa é o método reconhecido como ideal para a análise estrutural e permite maior precisão e sensibilidade (Barbosa, et al. 2012).[22]

O objetivo dessas análises é fornecer uma lista de massas moleculares, expressando as "impressões digitais das massas" (mass fingerprinting), além do "mapeamento peptídico" (peptide mapping) capaz de identificar padrões de clivagem por enzimas ou até fragmentos de uma macromolécula, elucidando processos metabólicos e moleculares antes não identificados (Panis, et al. 2016).[21]

DESENVOLVIMENTO

Os biomarcadores são indispensáveis para a medicina atual, pois identificam patologias, norteiam o progresso, o melhor tratamento e as respostas a essas terapias referentes à doença em questão de acordo com os resultados dos exames clínicos. Dessa forma, os biomarcadores podem ser caracterizados como diagnósticos, preditivos ou prognósticos (Tanase,et al. 2015).[1]

O proteoma, considerado como a tradução funcional do genoma, é considerado uma rica fonte de biomarcadores e mesmo com os avanços dos estudos se mostrando promissores, há poucas evidências de biomarcadores se provando eficazes para o monitoramento de pacientes com câncer. Estes possuem a função de avaliação do estado físico e patológico dos portadores dessa doença. Essa condição possui uma taxa de mortalidade alta, o que gera uma urgência para o adiantamento dessas descobertas (Kondo, 2014).[16]

Os casos de diagnóstico e tratamento precoce beneficiam a qualidade de vida dos pacientes com doenças de condição maligna, caracterizadas pelo crescimento anormal de células e o potencial delas de invadir outros tecidos. Por exemplo, a maioria dos casos de câncer de estômago, cólon, reto, bexiga, útero e próstata possuem uma taxa de sobrevivência de 5 anos e após implementação desses métodos, essa taxa pode ser reduzida em até 90% (Instituto Nacional de Câncer (INCA), 2011).[23]

Os biomarcadores plasmáticos são opções de investigação não-invasiva e de baixo custo que ainda sim conferem a funcionalidade dos exames. Entretanto, o plasma é constituído por milhares de proteínas com características fisiológicas semelhantes porém com diferentes níveis de expressão, o que pode ser benéfico para o estudo de doenças com alta complexidade molecular (Kondo, 2014).[16]

A partir desse ponto, é possível entender a necessidade das diferentes técnicas de análises para alcançar a especificidade e sensibilidade almejada. Ao estudar o proteoma tecidual tumoral, encontram-se diferentes células que o compõem, como as células epiteliais normais, estromais, inflamatórias, vasculares, endoteliais e musculares lisas, bem como as associadas à carcinogênese. Cada uma possui um proteoma único que orquestra o fenótipo tecidual da doença (Kondo, 2014).[16]

Anteriormente a avaliação dos tecidos possuía caráter homogêneo por meio do método de imuno-histoquímica, porém os dados obtidos não eram satisfatórios. Portanto, com o intuito de abordar a heterogeneidade das características teciduais, evidencia-se a utilização da técnica de microdissecção a laser, implementada com protocolos e reagentes exclusivos. Nesse caso, populações celulares específicas podem ser recuperadas sob observação microscópica (Kondo, 2014).[16]

Os processos imunológicos também estão intimamente ligados aos processos tumorais, pois possuem respostas específicas como a presença de antígenos tumorais, células e/ou

moléculas de natureza imune antitumoral. A desregulação da sinalização intracelular é uma das marcas registradas dessa patologia, possibilitando sua identificação através de produtos de sua interação com o microambiente em que se encontra. Evidenciando outra possível via de obtenção dos biomarcadores para o câncer (Wang, et al. 2014).[24]

De acordo com a complexidade das interações entre o desenvolvimento tumoral e o sistema imune, a supressão das respostas antitumorais e as descobertas dos biomarcadores preditivos se tornam um desafio para os pesquisadores. Todavia, a imunômica tem se desenvolvido com sucesso, essa área surge com a necessidade de compreender a coleta contínua de dados imunológicos em relação às patologias humanas. (Tanase,et al. 2015).[1]

O mapeamento preciso de moléculas bioativas foi recentemente evidenciado por meio do microarranjo de proteínas de fase reversa (RPPA), baseado em anticorpos singulares para representar o perfil da expressão e modificação de proteínas de sinalização manifestadas em baixas concentrações. O RPPA é uma tecnologia amplamente utilizada nos dias atuais, tanto em ensaios clínicos na busca de biomarcadores, quanto em laboratórios acadêmicos (Tanase,et al. 2015).[1]

Modificações proteicas pós-traducionais foram identificadas como intrínsecas ao processo de carcinogênese. Suas características foram discernidas entre vias de sinalização/alvos moleculares, local de potencial maligno e mecanismos moleculares carcinógenos (Tanase, et al. 2015; Zamora-Obando, et al. 2022; Liang e Chan, 2007).[1,19,20]

Inicialmente foi observado a via de sinalização JAK-STAT, que possui os seguintes alvos moleculares: STAT3, STAT5, JAK1 e JAK2; gerando alterações no tecido hematológico, na bexiga, cabeça, pescoço, ovários, próstata, etc. Encontrada a forma mutante do STAT, caracterizado pela regulação dos genes controlando o ciclo celular, a sobrevivência celular, angiogênese, etc. (O'Shea, et al. 2013; Sansone e Bromberg, 2012; Dorritie, et al. 2014).[4,5,6]

Em seguida foi observado a via de sinalização P13K-AKT, que possui os seguintes alvos moleculares: mTOR e P13K; gerando alterações na bexiga, peito, próstata, tireoide, ovários, carcinoma pulmonar de células não pequenas, câncer digestivo e adenoma pituitário. Encontradas modificações em relação a amplificação, mutação e translocação. O AKT ativado está intimamente ligado a transformação oncogênica e a quimiorresistência, desenvolvendo o crescimento celular, motilidade, sobrevivência, transições epiteliais mesenquimais (EMT) e angiogênese (Hennessy, et al. 2005; Bauer, et al. 2015).[8,9]

Outra via de sinalização observada foi a MAPK, que possui os seguintes alvos moleculares: MEK, ERK, JNK e p38; gerando alterações pancreáticas, no colorretal, no pulmão, no trato biliar, em melanomas, nas glândulas salivares e no trato urinário. As quinases são enzimas que transmitem sinais que regulam o crescimento celular, a diferenciação, proliferação, apoptose e funções de migração (Santarpia, et al. 2012; Munshi e Ramesh, 2013).[10,11]

Ademais, foi observada a via de sinalização WNT/□-catenina, que possui o seguinte alvo molecular: Wnt; gerando alterações na bexiga, ovários, pulmão, colorretal, próstata e alterações hepatocelulares. Envolvido no processo inicial do tumor, em seu crescimento, na senescência celular (processo do qual as células param irreversivelmente de se multiplicar sem entrar em morte celular), morte celular, diferenciação e metástase (Anastas e Moon, 2012; Polakis, 2012).[12,13] Além disso, câncer de células-tronco usam essa via de sinalização (Takahashi-Yanaga e Kahn, 2010).[7]

Posteriormente foi elucidado a via de sinalização da apoptose, que possui os seguintes alvos moleculares: IAP, Bcl-2, c-FLIP e MDM2; gerando alterações em tumores sólidos e hematológicos. Caracterizado pelo desequilíbrio de proteínas pró e antiapoptóticas, caspases com funções reduzidas e receptor de sinalização de morte prejudicado (Fesik, 2005; Bodur e Basaga, 2012).[14,15]

Evidencia-se um efetivo aperfeiçoamento das informações obtidas através dessas tecnologias por meio da organização das vias de sinalização proteômica de pacientes com câncer, se tornando um instrumento essencial para a seleção de alvos moleculares e para a validação de medicamentos, agindo de acordo com o pretendido na medicina personalizada (Panis, et al. 2016).[21]

Uma perspectiva promissora para o monitoramento eficaz da progressão da doença e de sua terapia é mediante à tabelas de biomarcadores apresentados através de padrões proteômicos moleculares. Essas relações possibilitam a clareza das interações entre as proteínas e suas vias de sinalização, de acordo com o fenótipo do tumor (Zamora-Obando, et al. 2022).[19]

As células-tronco cancerígenas (CSCs) são recentes descobertas que nos deram a oportunidade de reconhecer um dos principais atores da resistência à terapia antitumoral.

Todavia, essas pesquisas ainda dependem de muitos esforços para estabelecer modelos experimentais que evidenciam eficientemente essas células (Takashi-Yanaga e Kahn, 2010).[7]

Além disso, houve progresso no desenvolvimento de metodologias para essa análise, como na separação cromatográfica multidimensional, variedades de colunas, imunodepleção e monitoramento de reações múltiplas. Embora a tecnologia proteômica seja imatura, possibilitando a geração de falsos resultados, a avaliação da qualidade dos dados obtidos tem sido o maior impulso para os pesquisadores da área darem continuidade a esses estudos (Barbosa, et al. 2012).[22]

MATERIAL E MÉTODOS

O método utilizado para realizar a seleção dos artigos usados neste trabalho foi a revisão da literatura através das bases de dados eletrônicas SciELO (Scientific Electronic Library Online) e PubMed até os dias atuais com a intenção de apresentar informações recentes dos avanços nas pesquisas sobre o assunto em questão.

A estratégia escolhida foi a inclusão dos seguintes termos de busca: “Proteoma” OR “Proteômica” IN “Biomarcadores” AND “Terapia Celular” IN “Oncologia” OR “Câncer” e seus correspondentes em inglês. Serão excluídos da pesquisa artigos que não tenham disponível nos idiomas Inglês e Português, assim como também artigos que não estejam disponíveis os abstracts ou na versão completa nas bases de busca.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O proteoma é um conjunto molecular funcional que possui diversas características como o nível de expressão, localização de tecido e célula, modificações pós-tradução, interações proteína-proteína e degradação. Com esse trabalho foi possível esclarecer que todos esses fatores são indispensáveis para o conhecimento fisiológico e patológico do câncer.

Em meio aos estudos de ensaios clínicos e revisões da literatura, foram evidenciados desafios acerca das análises das proteínas identificados através de limitações técnicas, como baixa sensibilidade, reprodutibilidade e rendimento. Entretanto, estudos de expressão global de mRNA resultaram na identificação de muitos novos genes na carcinogênese e durante a progressão de vários tipos de câncer.

Outro desafio encontrado é no desenvolvimento de múltiplos biomarcadores que requerem centenas de casos e controles correspondentes. Por exemplo, na associação entre o sistema imunológico e processos tumorais, que tem como objetivo a determinação de conjuntos de anticorpos específicos para cada alvo de antígeno e o desenvolvimento de bases de dados em larga escala.

Os microarranjos de proteínas são comumente utilizados para criar paineis de biomarcadores, desempenhando papeis fundamentais no diagnóstico, prognóstico e monitoramento terapêutico. Com a medicina personalizada do câncer visando projetar tratamentos específicos com base no perfil molecular de cada tumor, esses microarranjos oferecem uma forma eficaz de avaliação de alto rendimento em amostras individuais de pacientes.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, eu gostaria de dedicar os maiores agradecimentos aos meus companheiros acadêmicos pela colaboração, cumplicidade e compreensão durante esses anos de graduação, especificamente às seguintes pessoas:

O Dr. Carlos Eduardo Pires de Campos, por nos dar a oportunidade de obter conhecimentos clínicos e acadêmicos acerca de sua experiência na área.

Bruna Martinho dos Humildes, Julia de Abreu Valente Costa, Giovanna D'Amici, Isabella Antonelli, Diana Zivkovic e Danyllo Gomes, por me proporcionarem o apoio e suporte necessários.

O Dr. Raphael de Souza Pinto, por estar sempre disposto a auxiliar nos estudos e questionamentos propostos ao longo desses anos.

E, por último mas não menos importante, agradeço a mim mesma pela dedicação e comprometimento com as informações selecionadas para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. CRISTIANA TĂNASE; RADU ALBULESCU; NEAGU, M. Proteomic Approaches for Biomarker Panels in Cancer. Journal of Immunoassay & Immunochemistry, v. 37, n. 1, p. 1–15, 13 nov. 2015.
2. GEYER, P. E. et al. Plasma Proteome Profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies. EMBO Molecular Medicine, v. 11, n. 11, 30 set. 2019.
3. GÓES, A. C. DE S.; OLIVEIRA, B. V. X. DE. Projeto Genoma Humano: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista Ciência Hoje. Ciência & Educação (Bauru), v. 20, n. 3, p. 561–577, set. 2014.
4. O'SHEA, J. J.; HOLLAND, S. M.; STAUDT, L. M. JAKs and STATs in Immunity, Immunodeficiency, and Cancer. New England Journal of Medicine, v. 368, n. 2, p. 161–170, 10 Jan. 2013.
5. SANSONE, P.; BROMBERG, J. Targeting the Interleukin-6/Jak/Stat Pathway in Human Malignancies. Journal of Clinical Oncology, v. 30, n. 9, p. 1005–1014, 20 Mar. 2012.
6. DORRITIE, K. A.; REDNER, R. L.; JOHNSON, D. E. STAT transcription factors in normal and cancer stem cells. Advances in Biological Regulation, v. 56, p. 30–44, 1 set. 2014.
7. TAKAHASHI-YANAGA, F.; KAHN, M. Targeting Wnt Signaling: Can We Safely Eradicate Cancer Stem Cells? Clinical Cancer Research, v. 16, n. 12, p. 3153–3162, 8 jun. 2010.
8. HENNESSY, B. T. et al. Exploiting the PI3K/AKT Pathway for Cancer Drug Discovery. Nature Reviews Drug Discovery, v. 4, n. 12, p. 988–1004, dez. 2005.
9. BAUER, T. M.; PATEL, M. R.; INFANTE, J. R. Targeting PI3 kinase in cancer. Pharmacology & Therapeutics, v. 146, p. 53–60, fev. 2015.
10. SANTARPIA, L.; LIPPMAN, S. M.; EL-NAGGAR, A. K. Targeting the MAPK–RAS–RAF Signaling Pathway in Cancer Therapy. Expert Opinion on Therapeutic Targets, v. 16, n. 1, p. 103–119, Jan. 2012.
11. MUNSHI, A.; RAMESH, R. Mitogen-Activated Protein Kinases and Their Role in Radiation Response. Genes & Cancer, v. 4, n. 9-10, p. 401–408, 9 abr. 2013.
12. ANASTAS, J. N.; MOON, R. T. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. Nature Reviews Cancer, v. 13, n. 1, p. 11–26, 21 dez. 2012.
13. POLAKIS, P. Drugging Wnt signalling in cancer. The EMBO Journal, v. 31, n. 12, p. 2737–2746, 22 maio 2012.

14. FESIK, S. W. Promoting apoptosis as a strategy for cancer drug discovery. Nature Reviews Cancer, v. 5, n. 11, p. 876–885, 20 out. 2005.
15. BODUR, C.; BASAGA, H. Bcl-2 Inhibitors: Emerging Drugs in Cancer Therapy. Current Medicinal Chemistry, v. 19, n. 12, p. 1804–1820, 1 mar. 2012.
16. KONDO, T. Inconvenient truth: Cancer biomarker development by using proteomics. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics, v. 1844, n. 5, p. 861–865, maio 2014.
17. OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>.
18. SANTOS, C. DE S.; NASCIMENTO, F. E. L. Isolated branched-chain amino acid intake and muscle protein synthesis in humans: a biochemical review. Einstein (São Paulo), v. 17, n. 3, 2019.
19. ZAMORA-OBANDO, H. et al. BIOMARCADORES MOLECULARES DE DOENÇAS HUMANAS: CONCEITOS FUNDAMENTAIS, MODELOS DE ESTUDO E APLICAÇÕES CLÍNICAS. Química Nova, 2022.
20. LIANG, S.-L.; CHAN, D. W. Enzymes and related proteins as cancer biomarkers: A proteomic approach. Clínica Chimica Acta, v. 381, n. 1, p. 93–97, maio de 2007.
21. PANIS, C. et al. Clinical proteomics in cancer: Where we are. Cancer Letters, v. 382, n. 2, p. 231–239, 28 nov. 2016.
22. BARBOSA, E. B. et al. Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 58, n. 3, p. 366–375, maio de 2012.
23. MINISTÉRIO DA SAÚDE Instituto Nacional de Câncer (INCA). [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>.
24. WANG, Y. et al. Evolution of the Strategies. for Screening and Identifying Human Tumor Antigens. Current Protein & Peptide Science, v. 15, n. 8, p. 819–827, 28 nov. 2014.