

EDGAR ANTÓNIO DELGADO CARDOSO

***MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR-
PAPEL DO MICROAMBIENTE TUMORAL
NA CARCINOGENESE***

**TRABALHO REALIZADO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM MEDICINA**

ORIENTAÇÃO: PROF^a. DR^a. LINA CARVALHO

ÁREA CIENTÍFICA DE ANATOMIA PATOLÓGICA

FMUC 2008/2009

Resumo

As moléculas de adesão celular determinam estimulação funcional, migração, ancoragem, diferenciação fenotípica e multiplicação celular. A capacidade da célula tumoral se movimentar, atravessar as paredes dos vasos e se localizar e proliferar no processo de metastização, está dependente das moléculas de adesão e das suas funções.

Actualmente é dada maior importância às integrinas, caderinas, imunoglobulinas, selectinas e CD44, como factores de adesão celular, activadores de vias de transdução e sinalização, cujas alterações em vários tipos de neoplasias malignas, conduzem a maior capacidade de progressão e metastização, tornando-se alvos de estudo para desenvolvimento de terapêuticas adequadas.

Procedemos à revisão dos conhecimentos actuais relativos às moléculas de adesão celular, tentando compreender o papel do microambiente tumoral no processo de carcinogénese e metastização, e implicações terapêuticas possíveis na frenação do crescimento tumoral.

Palavras-chave: carcinogénese; adesão celular; metastização; integrinas; caderinas; sinalização.

Summary

Cellular adhesion molecules provide functional stimulation, migration, anchoring, phenotypic differentiation and cell proliferation. The ability of tumor cell to move, go through the walls of blood vessels, locate and proliferate in the process of metastasis, is dependent of adhesion molecules and their functions.

Currently it is given more importance to the integrins, cadherins, immunoglobulins, selectins and CD44 as cell adhesion factors, activators of transduction and signalling pathways, which changes in various types of malignancies lead to greater ability for progression and metastasis, making of them the targets of study for development of appropriate therapies.

We proceeded to review current knowledge on cellular adhesion molecules, trying to understand the role of tumor microenvironment in the process of carcinogenesis and metastasis, and possible therapeutic implications in the tumor growth retardation.

Key-words: carcinogenesis; cellular adhesion; metastasis; integrins; cadherins; signaling.

Introdução

O conhecimento do papel das moléculas de adesão celular na carcinogénese, tornou mais eficazes as terapêuticas desenvolvidas tendo como alvo estas moléculas e as consequências das suas acções. As moléculas de adesão celular são importantes na adesão e migração celular, sendo também essenciais na modulação das vias de sinalização intracelular. O uso destas moléculas como alvo terapêutico, de modo directo ou indirecto, pode levar a redução da massa tumoral, à diminuição da sua resistência aos agentes de quimioterapia, ou a aumento da sua eficácia.

Procedemos à revisão dos conhecimentos actuais relativos às moléculas de adesão celular, tentando compreender o papel do microambiente tumoral no processo de carcinogénese e metastização, e implicações terapêuticas decorrentes para frenar o crescimento neoplásico e a metastização.

Interação Célula-Estroma

É comumente aceite que o cancro é uma doença causada por alterações genéticas, o que se depreende do processo de identificação e caracterização de oncogenes e de genes supressores tumorais. No entanto, também se sabe que o processo de carcinogénese é controlado por interacções celulares derivadas de uma relação complexa entre componentes da matriz extracelular e as células neoplásicas.

Estudos em vários tumores identificaram estroma neoplásico reactivo, caracterizado por composição particular da matriz extracelular, densidade de microvasos aumentada, células inflamatórias e fibroblastos com fenótipos alterados. Estes últimos, também chamados de miofibroblastos, estroma reactivo ou fibroblastos associados ao cancro, desempenham um papel crucial na interacção célula tumoral-estroma. Os mecanismos envolvidos no recrutamento destes miofibroblastos incluem lesões dos microvasos, contactos directos célula-célula, e factores solúveis, como hormonas, citocinas, quimiocinas, proteínas da matriz extracelular e diversos factores de crescimento, dos quais os mais importantes são o TGF- β (Transforming Growth Factor β) e o PDGF (Platelet Derived Growth Factor). O modo como se dá a conversão para estroma neoplásico reactivo é bastante similar ao que se observa nos processos inflamatórios, pelo que as moléculas cruciais num processo também estão presentes no outro [1].

As estratégias terapêuticas que têm como alvo a interacção tumor-estroma dividem-se em três categorias: (1) inibição dos sinais originados nos miofibroblastos, que iniciam ou promovem o crescimento celular, invasão e metastização; (2) bloqueio dos sinais originados nas células tumorais que são responsáveis pelo recrutamento dos miofibroblastos para inibir a sua diferenciação e a angiogénese; (3) erradicação destes fibroblastos associados ao cancro para eliminação da sinalização, prevenindo o efeito destes nas células do estroma do hospedeiro e tumoral [1,2].

O microambiente do tumor desempenha um papel fundamental na promoção do crescimento e sobrevivência das células tumorais, através de mecanismos directos e indirectos. Os primeiros incluem interacções entre as células tumorais e as proteínas ou outros componentes da matriz extracelular (ECM) dependentes da localização do tumor e do seu crescimento. Indirectamente, os tumores sobrevivem a certas drogas através da produção autócrina ou parácrina de citocinas, factores de crescimento e hormonas [3].

Em geral, os receptores de adesão celular dividem-se em cinco grupos: (1) a família das integrinas, que medeia a adesão célula-célula e célula-ECM; (2) a família das caderinas, responsável pela adesão entre células do mesmo tipo; (3) as selectinas, que medeiam a adesão heterotípica célula-célula; (4) a superfamília das imunoglobulinas, que medeia também a adesão célula-célula; (5) outros proteoglicanos transmembranares, como as moléculas de adesão CD44 e o sindecano, que medeiam a adesão célula-ECM.

As moléculas de adesão celular são assim componentes críticos em quase todos os processos celulares envolvidos no desenvolvimento, diferenciação, morfogénese e resposta inflamatória. Em particular, a adesão célula-ECM mediada pelas integrinas, a adesão célula-célula mediada pelas caderinas, e as vias de sinalização activadas pela adesão celular, desempenham um papel fulcral na definição do fenótipo celular e no controlo da proliferação e morte celulares.

Durante o desenvolvimento embrionário, onde as interacções e a proliferação celulares têm de ser controladas no espaço e no tempo, as moléculas de adesão caderinas e integrinas permitem que as células se apercebam das suas relações com outras células e a ECM, e possam assim converter estas pistas posicionais em alterações nas vias de sinalização intracelulares. As vias activadas pela adesão célula-ECM ou célula-célula interagem de formas complexas, de modo a regular a adesão celular, proliferação e migração, expressão genética, proliferação celular ou apoptose, e o estado de diferenciação da célula. Assim, a natureza das interacções entre estas vias activadas através da adesão celular definem o fenótipo celular [4-6].

A regulação aberrante da expressão ou função das moléculas de adesão encontra-se mecanicamente envolvida nos processos traduzidos em malignidade e metastização. De facto, as moléculas de adesão podem ser usadas como biomarcadores de prognóstico em doentes com alguns cancros, podendo correlacionar-se os seus níveis no endotélio celular ou em células tumorais, com um fenótipo mais agressivo ou com pior prognóstico. Várias subunidades das integrinas provaram contribuir para a malignidade, de forma positiva ou negativa, dependendo do tipo de tecido e do tipo de cancro. Ocorre uma redução da expressão da E-caderina em muitos tumores epiteliais, e uma perda ou disfunção da E-caderina é associada a maior progressão, invasão e capacidade metastizante. Muitas das alterações celulares associadas à carcinogénese, como o aumento da actividade dos receptores de factores de crescimento e suas vias de sinalização, estão também associadas a um aumento da resistência à quimioterapia. A adesão celular à matriz extracelular ou a outras células caracteriza a carcinogénese e promove resistência a certas drogas, um fenómeno chamado de resistência induzida por moléculas de adesão celular [7,8].

Moléculas de Adesão Celular

Integrinas

Constituem uma grande família de receptores glicoproteicos da superfície celular, que ligam o citosqueleto à matriz extracelular em locais de adesão focal, e filamentos intermediários à matriz extracelular nos hemidesmossomas. Também podem intervir na ligação celular a outros receptores de adesão, como os pertencentes à família das imunoglobulinas. São constituídas por um heterodímero de duas cadeias transmembranares α e β , associadas de forma não covalente. Existem pelo menos 14 cadeias α e 8 β , que se podem combinar de modo a formar 24 dímeros de uma forma específica de tecido e tempo, conferindo-lhes também características de ligação muito específicas. As células expressam, por vezes, múltiplas integrinas de repertório redundante, de modo a aumentar o seu efeito. A cauda citoplasmática das cadeias α e β é responsável pela interacção com proteínas citosqueléticas e pela activação de vias de transdução de sinal, através da ligação à cinase de adesão focal (FAK), de modo a regular a força de adesão, a endocitose e a motilidade celulares [9-11].

A sinalização mediada pelas integrinas é complexa, resultando da activação de várias vias de transdução de sinal. A adesão leva à acumulação de integrinas e de cinase da tirosina não-receptora da FAK a nível local, o que conduz à autofosforilação da FAK na tirosina 397. A FAK fosforilada liga-se aos oncogenes Src ou Fyn. O Src vai então fosforilar a FAK, proteínas do citosqueleto como a paxilina e a tensina, e proteínas de transdução de sinal, como Cas, Crk e fosfatidilinositol-3-cinase (PI3-cinase) [12,13]. A fosforilação adicional da FAK aumenta a actividade celular catalítica e promove a ligação da célula a outras proteínas intra e extra-celulares. A ligação a Grb2/Sos aumenta a carga de GTP e leva a activação do Ras. O GTP-Ras vai activar a PI3-cinase e as vias de sinalização pelas MAP-cinases. A PI3-cinase vai então activar o factor de sobrevivência Akt que, por sua vez, promove a activação de uma série de sinais anti-apoptose, incluindo FKHRD, mTOR, e Bad, resultando num aumento da sobrevivência da célula. A ERK é uma cinase serina/treonina que influencia a expressão de ciclinas, regula a progressão do ciclo celular e inibe a apoptose. O ERK activado também vai alterar a expressão genética, ao activar vários factores de transcrição no núcleo, incluindo AP-1, ELK, e CREB-1 [14,15].

A adesão dependente de integrinas à fibronectina pode promover a expressão de metaloproteinases da matriz (MMPs) [16]. A expressão da MMP-2 e da integrina $\alpha v \beta 3$ correlaciona-se com metastização e invasão tumoral aumentadas em melanomas, e a expressão da MMP-9 e de $\alpha 3 \beta 1$ apresenta a mesma correlação, mas no cancro da mama. Provou-se que integrinas que contenham a subunidade $\beta 1$ regulam a adesão de células metastáticas de cancro da mama nos gânglios linfáticos, dos osteoclastos ao osso, de células de carcinoma gástrico ao peritoneu e de células de cancro do pulmão de pequenas células à laminina [17,18]. Células tumorais interagem com a ECM durante a invasão e metastização tumorais, frequentemente através de sequências Arginina-Glicina-Aspartato, presentes em muitas proteínas da matriz. No entanto, enquanto a adesão à ECM é necessária para que ocorra migração e proliferação celulares, estes processos podem ser inibidos pela adesão célula-célula que envolve a E-caderina enquanto normal [11].

Caderinas

As caderinas constituem um grupo grande de proteínas responsáveis pela adesão entre células homotípicas. As clássicas (E-, N-, e P-caderina) são glicoproteínas transmembranares que, através da sua porção extracelular, regulam interações proteicas intercelulares dependentes de cálcio, definidas como junções aderentes [6,19]. A E-caderina é essencial na função e manutenção dos tecidos epiteliais, enquanto a N-caderina e a caderina-11 são preferencialmente expressadas por células migratórias e do mesênquima dos tecidos conectivos.

As porções citoplasmáticas das caderinas clássicas interagem com a β -catenina, α -catenina, e p120^{cas} para formar um complexo citoplasmático de adesão celular que, por sua vez, se liga ao citoesqueleto de actina [20]. Assim, as cateninas desempenham um papel fundamental na organização estrutural e função das caderinas, através da regulação de ligações ao citoesqueleto de actina. Contudo, a β -catenina pode também actuar como factor de transcrição na via de sinalização do Wnt, e pode aumentar a expressão de genes estimuladores de crescimento, como o c-myc e a ciclina D. A interacção da β -catenina com a E- ou a N-caderina (estabilizada por fosforilação da serina/treonina) reduz a sua função de actuar como co-activador da transcrição, e pode assim bloquear o crescimento celular [21,22].

A adesão celular mediada por caderinas pode induzir uma grande variedade de sinais transmembranares que inibem o crescimento celular e promovem a diferenciação, incluindo a activação de MEK/ERK, PI3-cinase, Akt, receptor do factor de crescimento dos fibroblastos (FGFR), e as pequenas GTPases, Rac1 e Cdc-42. As caderinas também se associam a receptores da tirosina-cinase, incluindo c-met, FGFR, EGFR, e HER-2, de modo a alterar a sinalização celular. A E-caderina associa-se ao receptor da tirosina-cinase EphA2, activando esta via de sinalização, e levando a alteração da actividade da integrina, diminuição da adesão célula-ECM, e diminuição do crescimento celular, através da interacção com a FAK. A disrupção da adesão intercelular dependente de caderinas, com anticorpos ou através de antagonistas de peptídeos específicos, pode levar a desintegração das junções aderentes e induzir alterações na sinalização celular, actuando em alvos terapêuticos bem definidos [23,24].

Algumas células tumorais não apresentam diminuição da E-caderina, mas antes uma expressão aumentada da N-caderina ou caderina-11, adquirindo fenótipo mesenquimatoso invasivo. De facto, a expressão ectópica da N-caderina promove um fenótipo migratório e invasivo, mesmo que a expressão da E-caderina se mantenha normal. A interacção entre caderinas e integrinas também pode promover a malignidade das células tumorais. Por exemplo, a inibição das subunidades $\alpha 1$ e $\alpha 3$ das integrinas pode levar a um aumento da adesão intercelular mediada pela N-caderina nas células da crista neural, e a expressão ectópica da subunidade $\alpha 5$ da integrina pode aumentar a expressão e função da N-caderina por mioblastos. Níveis altos de expressão da N-caderina e de subunidades $\alpha 5$ de integrinas estão associados ao fenótipo mais invasivo que se conhece de melanoma [25,26].

A Superfamília das Imunoglobulinas

A superfamília das imunoglobulinas (Ig-CAM) encontra-se expressa numa grande variedade de tipos celulares, incluindo células do endotélio vascular, linfócitos, fibroblastos, células hematopoiéticas, e células tumorais. Alguns membros desta família são a ICAM-1, VCAM-1, ALCAM, NCAM, EpCAM, CEA, DCC e MUC-118. As Ig-CAMs ligam-se a muitas outras moléculas, incluindo outras Ig-CAMs, receptores de factores de crescimento, caderinas e integrinas, de modo a regular interações intercelulares e entre a célula e a matriz extracelular. Em geral, é necessária a acção de Ig-CAMs, como a ICAM-1 e a VCAM-1, para que se dê o movimento dos leucócitos durante a inflamação, e a sua expressão pode ser aumentada através de tratamentos com citocinas pró-inflamatórias. Contudo, também se provou que a ICAM-1 e a VCAM-1 interagem com as integrinas $\alpha L\beta 2$ e $\alpha 4\beta 1$, respectivamente, de modo a promover o extravasamento e metastização das células tumorais. A adesão destas Ig-CAMs também foi associado a activação das MAP-quinases e da via de sinalização do Ras, e com a inibição da apoptose celular [27,28].

Formas solúveis de algumas Ig-CAMs encontram-se em níveis elevados no soro e plasma de doentes com inflamação, artrite, diabetes e cancro, e podem desempenhar um papel importante no crescimento e metastização tumorais, através da promoção da angiogénese. A correlação entre níveis elevados destas moléculas solúveis, e a progressão da doença e sobrevivência, está provada e pode ser preditiva de resposta ao tratamento [29].

Selectinas

As selectinas, juntamente com as Ig-CAMs e as integrinas, são necessárias para se dar a interacção dos leucócitos com as células endoteliais durante a inflamação, e estão directamente envolvidas nas interações que ocorrem na metastização, entre as células tumorais e as endoteliais. Constituem uma pequena família de glicoproteínas transmembranares, dependentes do cálcio, incluindo a E-, P-, e L-selectina.

Esta família de moléculas de adesão celular desempenha um papel muito importante nos processos de sinalização que regulam a aderência dos leucócitos às células endoteliais e às plaquetas, durante os processos inflamatórios. Estes mecanismos também são activados pela aderência das células tumorais ao endotélio durante a metastização, e, muito provavelmente, contribuem para a proliferação cancerígena. A E-selectina e a L-selectina também contribuem para o crescimento tumoral através do aumento da angiogénese, ou através da activação de vias de transdução de sinal dependentes de selectina, regulando assim a migração e sobrevivência das células cancerígenas [30].

Moléculas de adesão CD44

As moléculas de adesão CD44 são proteínas monoméricas, transmembranares e glicosiladas, apresentando terminais N e O. Tal como outras moléculas de adesão, são multi-funcionais: a porção N-terminal é responsável pela adesão a proteínas da matriz extracelular, como ácido hialurónico, colagénio, laminina e fibronectina, e a proteínas extracelulares solúveis, como factores de crescimento, citocinas, quimiocinas e MMPs; a porção intracelular associa-se com o citosqueleto e as cinases de fosfotirosina da família src, de modo a relacionar a ligação extracelular à activação de vias de transdução de sinal [31].

A adesão celular dependente de CD44 pode promover a proliferação e inibir a apoptose, através da activação do gene de controlo do crescimento, c-Met, ou por activação da via da PI3-cinase/Akt. Pode também associar-se a receptores da tirosina cinase, como a família ERBB dos receptores de factores de crescimento (EGFR, ERBB2/HER-2/neu, ERBB3 e ERBB4), formando complexos de sinalização que vão afectar a sobrevivência e proliferação celulares. Por exemplo, a interacção da variante CD44v3 com ERBB2/HER2/neu numa linha celular de cancro do ovário promove a activação de Ras e Rac1, proliferação de células tumorais, e reorganização do citosqueleto. É ainda de referir que a ligação da CD44 a MMP pode levar a que esta se dirija ao local de contacto da célula cancerígena com a matriz, facilitando a invasão celular e a progressão tumoral [31].

Invasão e Migração Através da Matriz Extracelular

Durante o processo metastático ocorre a invasão da matriz extracelular e a migração das células tumorais, processos coordenados que requerem alterações das próprias células cancerígenas: a formação de pseudópodes, libertação e activação de proteases da matriz na frente invasiva, adesão celular à matriz proteolisada, e movimento celular por descolamento do pólo basal celular. A perda da polarização epitelioide e a aquisição de um fenótipo invasivo dão-se através de uma transição epitelial-mesenquimatosa. No entanto, análises focadas na frente invasiva de tumores primários revelaram dois fenómenos que permitem a cooperação entre células cancerígenas heterogéneas: a habilidade das células para migrarem depende da “rigidez” da matriz extracelular e da capacidade de proteólise das células neoplásicas, de modo a ocorrer a degradação dos componentes da matriz [32-35].

A transição epitelial-mesenquimatosa (EMT) consiste numa forma de plasticidade, em que as células epiteliais perdem as suas características, adquirindo as que se relacionam com células mesenquimatosas. É um fenómeno que ocorre durante o desenvolvimento embrionário e em lesões teciduais, e é reactivado aquando da progressão de numerosos cancros para formas mais agressivas e invasivas, nomeadamente cancros da pele, próstata, mama, fígado, pâncreas, tracto gastrointestinal e cólo-rectal. Este processo implica mudanças complexas nas células tumorais e no seu microambiente, que podem levar a diminuição da adesão intercelular, des-coesão celular e aumento das interacções entre célula e matriz extracelular, a nível do estroma reactivo. As alterações morfogenéticas decorrentes da perda do fenótipo epitelial levam a um aumento da mobilidade e potencial invasivo, por parte das células tumorais. Em geral,

tal processo é associado a activação sustentada de diversas cascatas oncogénicas nas células epiteliais, conduzindo à transformação de lesões pré-malignas em cancros localmente invasivos [32-35].

Moléculas de Adesão Celular e Terapêutica Anti-Neoplásica

A maioria dos agentes de quimioterapia tem como alvo células de crescimento rápido, mas muitos tumores sólidos crescem de forma lenta, ou têm a capacidade de resistir a estes agentes, continuando a crescer e a metastizar para novos locais. Cancros resistentes à quimioterapia estão normalmente associados a mau prognóstico, pelo que têm vindo a ser desenvolvidos novos agentes terapêuticos, de modo a contornar este problema. Uma vez que os processos de adesão, mediados principalmente pelas integrinas e caderinas, se mostraram envolvidos na carcinogénese e resistência a drogas, terapêuticas tendo como alvo estas moléculas de adesão poderiam influenciar o prognóstico de forma muito favorável. No entanto, devido à multiplicidade e complexidade das vias de sinalização envolvidas, as novas terapêuticas desenvolvidas têm sido dirigidas principalmente às moléculas de adesão conhecidas na metastização e angiogénese.

A metastização envolve múltiplos processos de adesão celular coordenados, abrangendo alterações na interacção intercelular e entre as células e a matriz, que ocorrem durante a libertação das células da massa tumoral, sua migração e permeação do sistema vascular ou linfático [30]. Estes processos de adesão envolvem integrinas, Ig-CAM's e selectinas, que coordenam e promovem interacções físicas, e vias de sinalização muito similares às envolvidas na resistência a drogas mediada por moléculas de adesão celular [8].

Uma vez que a metastização constitui uma grande causa de morbidade e mortalidade, agentes que bloqueiem interacções celulares com a matriz ou com o endotélio vascular, e as várias vias de sinalização que são activadas por estas, podem ser de valor terapêutico significativo. Além disso, terapêuticas envolvendo as integrinas no endotélio demonstram potencial para inibir a angiogénese e, portanto, o crescimento tumoral. Também os receptores de vitronectina, $\alpha\beta3$ e $\alpha\beta5$, são importantes na metastização e progressão cancerígena e têm um papel crítico na promoção da apoptose de células endoteliais [36-38].

Antagonistas das Integrinas

A maioria dos antagonistas das integrinas é direccionada para aquelas que contêm a subunidade αv , incluindo anticorpos monoclonais anti- $\alpha\beta3$, e pequenos peptídeos inibidores baseados no domínio peptídeo RGD. A integrina $\alpha\beta3$ liga-se ao domínio RGD presente em proteínas da matriz extracelular, como a fibronectina, e do soro, como a vitronectina ou o factor de vonWillebrandt. Os seus antagonistas vão então bloquear a adesão das células tumorais ao endotélio ou à matriz. Alguns estudos demonstraram ainda que estes agentes conseguem inibir a metastização pulmonar de algumas células de melanoma, metástases ósseas de cancro da mama, e metastização hepática de células de carcinoma do cólon, em modelos animais (rato) [39-41].

Estes estudos sugerem que a integrina $\alpha\beta3$ pode desempenhar um papel importante nos eventos iniciais da metastização, e que os seus inibidores podem ser úteis no seu tratamento ou prevenção. Alguns destes compostos monoméricos apresentam baixa afinidade para bloquear a adesão celular, demonstrando ainda ter baixa estabilidade biológica in vivo. Por este motivo, têm sido desenvolvidos novos fármacos, com base em compostos sintéticos cíclicos e em proteínas derivadas de veneno de cobra contendo domínio RGD e que apresentaram resultados prometedores em células de melanoma.

Inibidores da Activação de Integrinas

As interacções com as integrinas são reguladas por dois factores: o número de heterodímeros de integrina na superfície da célula e a activação dos mesmos (esta consiste no processo pelo qual a célula altera a afinidade do receptor da integrina para o seu substrato, sem alterar o número de receptores). Por exemplo, a selecção de células de mieloma resistentes a agentes alquilantes foi associada à presença de uma integrina $\alpha4\beta1$ activada, o que sugere que células cancerígenas com resistência a drogas podem apresentar mais integrinas activas [42].

Este processo parece ser mediado pela activação de uma pequena proteína G, R-Ras, uma vez que a activação desta é associada a alterações na conformação e afinidade da integrina; e a inibição da R-Ras vai diminuir a adesão mediada por esta molécula. Assim, terapêuticas direccionadas a estas moléculas podem conduzir à diminuição da adesão celular dependente de integrinas e até alterar a resposta das células a determinadas drogas [43].

Outro dado a ter em conta é a forma como o tratamento com bifosfonatos pode alterar a activação de integrinas. Estes fármacos são muitas vezes usados no tratamento de mielomas de modo a inibir a reabsorção óssea mediada por osteoclastos, mas mostraram também o potencial de diminuir a massa tumoral. Os bifosfonatos diminuem a adesão de células de tumores da mama à matriz extracelular da medula óssea, sem alterar o número de receptores, e pode induzir apoptose em células de mieloma. Este facto leva a crer que fármacos inibidores com propriedades mais específicas direccionadas à activação das integrinas podem vir a apresentar uma eficácia superior [44,45].

Terapêuticas Relacionadas com Vias de Sinalização Mediadas pela Adesão Celular

As vias de sinalização activadas pelas moléculas de adesão são complexas e o seu conhecimento é ainda dificultado pela interacção que se dá entre diferentes vias. Além disso, cada receptor de adesão parece ser capaz de activar um grupo particular de vias de sinalização, normalmente em sinergia com sinais induzidos por factores de crescimento ou citocinas, como por exemplo no controlo do crescimento celular.

Apesar desta complexidade, a activação destas vias de sinalização na intervenção terapêutica sobre a carcinogénese pode ser muito relevante. Por exemplo, a adesão dependente de integrinas é responsável pela activação de outras vias relacionadas com a mitose e a sobrevivência celular que estão directamente ligadas à protecção de tumores sólidos e hematológicos da apoptose induzida pela quimioterapia. A activação da FAK, ERK e Akt, após adesão mediada por integrinas à matriz extracelular, foram relacionadas com fenótipos resistentes à apoptose [46,47].

Outras terapêuticas em desenvolvimento são as que visam a recepção específica de drogas por parte de moléculas de adesão presentes no microambiente do tumor. Os agentes utilizados incluem vírus, peptídeos, ou anticorpos com especificidade para determinada molécula de adesão, ao qual se acopla o agente terapêutico pretendido. O alvo mais pretendido é o TGF- β .

Discussão

O tema da adesão celular constitui um campo novo da Patologia Molecular. No entanto, graças aos progressos na produção de anticorpos monoclonais e da aplicação de técnicas de biologia molecular, estas moléculas continuam a ser usadas, isoladas e estudadas, revelando todo o seu potencial. Espera-se mesmo que várias doenças ditas degenerativas ou que tenham por base processos inflamatórios, venham a conhecer avanços terapêuticos significativos, devido aos dados que se estão a obter a respeito dos mecanismos de migração e diferenciação de células da matriz conjuntiva.

O papel das integrinas na carcinogénese e na metastização é importante porque as células adquirem capacidades de adesão e invasão, com aumento do seu potencial metastático como resultado de alterações na expressão, função e activação das suas integrinas. A expressão destas moléculas correlaciona-se, em alguns cancros, com comportamento de malignidade, estando implicadas no desenvolvimento, crescimento e metastização tumorais. Algumas integrinas específicas, como a $\alpha v \beta 3$ e a $\alpha v \beta 5$, também foram implicadas indirectamente no desenvolvimento tumoral, através do seu papel na regulação da migração e crescimento de células do endotélio vascular, necessárias para a angiogénese. Integrinas que contenham a subunidade $\beta 1$ relacionam-se com a iniciação e proliferação de tumores mamários humanos em modelos animais transgénicos [48-51]. Foi encontrada correlação significativa entre a expressão de algumas integrinas e o estágio clínico, a progressão tumoral e o prognóstico de vários cancros, nomeadamente o carcinoma de pequenas células do pulmão, colo-rectal, gástrico, melanoma, do ovário, da mama e da bexiga [51]. Altos níveis de $\alpha 5 \beta 1$ ou $\alpha v \beta 3$ correlacionam-se com mau prognóstico em melanomas e no carcinoma de pequenas células do pulmão, enquanto níveis altos de $\alpha v \beta 3$ se relacionam com mau prognóstico no carcinoma do cólon. Níveis baixos de $\alpha 5 \beta 1$ estão ligados à malignidade no cancro da mama, assim como diminuição dos níveis da integrina $\alpha 2 \beta 1$ [52,53]. A expressão aumentada das integrinas $\alpha 6 \beta 1$, $\alpha 6 \beta 4$ e $\alpha 3 \beta 1$ em tecido tumoral correlaciona-se com sobrevivência diminuída e aumento da metastização em doentes com cancro da próstata e da mama [54]. Provou-se também que a adesão através das integrinas $\alpha 6 \beta 1$ e $\alpha 6 \beta 4$ estimula a angiogénese e promove a progressão tumoral, através da activação da via da PI3-cinase/Akt, levando a supressão da apoptose e aumento da expressão do VEGF [55].

Quanto à carcinogénese e metastização, sabe-se que a diminuição da expressão da E-caderina ocorre na maioria dos cancros epiteliais, incluindo colo-rectal, da bexiga e da mama, e uma perda ou disfunção da E-caderina está associada a aumento da metastização e invasão tumorais. Experiências com células em cultura e em modelos de ratos transgénicos, mostraram que a perda de E-caderina ocorre como causa de formação de tumores epiteliais e que a re-expressão da E-caderina pode restaurar um fenótipo epitelial não invasivo. Provou-se que uma forma solúvel de E-caderina pode aumentar os níveis de MMP-2 e MMP-9, levando ao correspondente aumento do potencial invasivo das células tumorais. Um aumento dos níveis desta forma solúvel pode ter valor prognóstico no cancro do estômago e no mieloma múltiplo [56,57].

Vários membros da superfamília das imunoglobulinas estão ligados a progressão tumoral. Por exemplo, a expressão do CEA está aumentada em muitos tumores epiteliais, incluindo o carcinoma colo-rectal, de pequenas células do pulmão e da mama, estando também associada a metastização aumentada. A Ep-CAM é uma glicoproteína transmembranar de 40 kDa, expressa na superfície da maioria das células epiteliais humanas, podendo ser responsável por uma diminuição da adesão regulada pelas caderinas. Uma expressão aumentada da Ep-CAM está associada a pior prognóstico no cancro da mama, da próstata, do ovário e colo-rectal. Em contraste, baixos níveis de ALCAM estão associados a fenótipos mais agressivos e a mau prognóstico nos cancros da mama e da próstata, e níveis aumentados podem ter importância prognóstica no carcinoma colo-rectal [58-61].

Níveis séricos aumentados de algumas selectinas estão associados a metastização e pior prognóstico em diversos tipos de cancro, incluindo mama, colo-rectal, gástrico, esofágico de células escamosas, e linfomas linfoblástico [62-64].

A expressão de CD44 e algumas de suas variantes correlaciona-se com invasão tumoral diminuída e melhoria prognóstica em cancros do ovário e da bexiga. Em contraste, a variante CD44v6 está associada a mau prognóstico em cancros esofágicos de células escamosas, cancro colo-rectal, e cancros da cabeça e do pescoço [65-68].

A adesão de células de melanoma ao endotélio vascular, que se acredita ser necessário para a metastização, envolve interacções mediadas por selectinas e $\alpha 4\beta 1$ integrina/VCAM-1 ou $\alpha v\beta 3$, de modo a promover adesão estável. Vários estudos experimentais demonstraram que a E-selectina, ICAM-1, VCAM-1, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$ e $\alpha v\beta 3$ estão envolvidas na adesão de células cancerígenas a células endoteliais, e que a inibição destas interacções de adesão previne o comportamento metastático por parte do tumor [36,37].

Como já referido, a intervenção clínica ao nível das moléculas de adesão celular divide-se em três grupos: (1) o bloqueio directo das interacções receptor-ligando, com recurso a antagonista, de modo a prevenir adesão; (2) prevenção de alterações estruturais ou funcionais na molécula de adesão, induzidas pela célula (activação da molécula de adesão); e (3) inibição das vias de transdução de sinal activadas em resposta à adesão celular. Há, no entanto, múltiplos obstáculos no desenvolvimento de terapêuticas efectivas direccionadas às moléculas de adesão, uma vez que estas se podem expressar de forma específica de tecido, local ou estágio tumoral. Como podem estar envolvidas em múltiplas vias de sinalização dependentes deste tipo de moléculas, a dificuldade do seu uso como alvo de estratégia terapêutica é muito limitada.

As vias de sinalização activadas por adesão mediada por integrinas revelam-se excelentes alvos terapêuticos, em particular aquelas que são também activadas por factores de crescimento, uma vez que também estes são promotores de resistência terapêutica. Vários inibidores de cinases activadas por integrinas e factores de crescimento, têm vindo a ser desenvolvidos para uso clínico, incluindo inibidores da tirosina cinase, e inibidores da PI3-cinase, estes funcionando como sensibilizadores da apoptose [46,47].

O estudo dos fenómenos de adesão tem crescido de modo notável, esperando-se que traga grandes progressos a curto prazo, no campo científico em geral, e médico em particular.

Referências Bibliográficas

1. DeWever o, Mareel M. Role of tissue stroma in câncer cell invasion. *J Pathol* 2003;200:429-47.
2. Micke P, Ostman A. Tumour-stroma interaction: cancer-associated fibroblasts as novel targets in anti-cancer therapy? *Lung Cancer*. 2004 Aug;45 Suppl 2:S163-75.
3. Gassman P, Enns A, Haier J. Role of tumor cell adhesion and migration in organ-specific metastasis formation. *Onkologie* 2004; 27:577-582.
4. Foty RA, Steinberg MS. Cadherin-mediated cell-cell adhesion and tissue segregation in relation to malignancy. *Int J Dev Biol* 2004; 48:397-409.
5. Danen EH, Sonnenberg A. Integrins in regulation of tissue development and function. *J Pathol* 2003; 201:632-641.
6. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signaling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4:118-132.
7. Damiano JS. Integrins as novel drug targets for overcoming innate drug resistance. *Curr Cancer Drug Targets* 2002; 2:37-43.
8. Liang Y, McDonnell S, Clynes M. Examining the relationship between cancer invasion/metastasis and drug resistance. *Curr Cancer Drug Targets* 2002; 2:257-277.
9. Damsky CH, Ilic D. Integrin signaling: it's where the action is. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14:594-602.
10. Liu G, Guibao CD, Zheng J. Structural insight into the mechanisms of targeting and signaling of focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol* 2002; 22(8):2751-2760.
11. Humphries MJ, Travis MA, Clark K, Mould AP. Mechanisms of integration of cells and extracellular matrices by integrins. *Biochem Soc Trans* 2004; 32:822-825.
12. Parsons JT. Focal adhesion kinase: the first ten years. *J Cell Sci* 2003; 116:1409-1416.
13. Playford MP, Schaller MD. The interplay between Src and integrins in normal and tumor biology. *Oncogene* 2004; 23:7928-7946.
14. Howe AK, Aplin AE, Juliano RL. Anchorage-dependent ERK signaling- mechanisms and consequences. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:30-35.
15. Schwartz MA, Assoian RK. Integrins and cell proliferation: regulation of cyclin dependent kinases *via* cytoplasmic signaling pathways. *J Cell Sci* 2001; 114:2553-2560.
16. Jia Y, Zeng ZZ, *et al.* Integrin fibronectin receptors in matrix metalloproteinase-1-dependent invasion by breast cancer and mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2004; 64:8674-8681.
17. Takatsuki H, *et al.* Adhesion of gastric carcinoma cells to peritoneum mediated by alpha3beta1 integrin (VLA-3). *Cancer Res* 2004; 64:6065-6070.
18. Hofmann UB, Westphal JR, *et al.* Coexpression of integrin alpha(v)beta3 and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) coincides with MMP activation: correlation with MMP-2 activation: correlation with melanoma progression. *J Invest Dermatol* 2000; 115:625-632.
19. Alattia JR, Tong KI, *et al.* Cadherins. *Methods Mol Biol* 2002; 172:199-210.
20. Gooding JM, Yap KL, *et al.* The cadherin-catenin complex as a focal point of cell adhesion and signaling: new insights from three-dimensional structures. *Bioessays* 2004; 26:497-511.
21. Gottardi CJ, Wong E, *et al.* E-cadherin suppresses cellular transformation by inhibiting beta-catenin signaling in an adhesion-independent manner. *J Cell Biol* 2001; 153:1049-1060.
22. Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303:1483-1487.
23. Kovacs EM, Ali RG, *et al.* E-cadherin homophilic ligation directly signals through Rac and phosphatidylinositol 3-kinase to regulate adhesive contacts. *J Biol Chem* 2002; 277:6708-6718.
24. Qian X, Karpova T, *et al.* E-cadherin mediated adhesion inhibits ligand-dependent activation of diverse receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 2004; 23:1739-1784.
25. Laidler P, Gil D, *et al.* Expression of beta1-integrins and N-cadherin in bladder cancer and melanoma cell lines. *Acta Biochim Pol* 2000; 47:1159-1170.
26. Hazan RB, Phillips GR, *et al.* Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion and metastasis. *J Cell Biol* 2000; 148:779-790.
27. van WS, van den BN, *et al.* VCAM-1 mediated Rac signaling controls endothelial cell-cell contacts and leukocyte transmigration. *Am J Cell Physiol* 2003;285:C343-C352.
28. Cavallaro U, Christofori G. Multitasking in tumor progression: signaling functions of cell adhesion molecules. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1014:58-66.
29. O'Hanlon DM, Fitzsimons H, *et al.* Soluble adhesion molecules (E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1) in breast carcinoma. *Eur J Cancer* 2002; 38:2252-2257.

30. Orr FW, Wang HH, *et al.* Interactions between cancer cells and the endothelium in metastasis. *J Pathol* 2000; 190:310-329.
31. Marhaba R, Zoller M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. *J Mol Histol* 2004; 35:211-231.
32. Wittekind C, Neid M. Cancer invasion and metastasis. *Oncology* 2005; 69:14-16.
33. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7:131-142.
34. Zaman MH, Trapani LM, *et al.* Migration of tumor cells in 3D matrices is governed by matrix stiffness along with cell-matrix adhesion and proteolysis. *Proc Nat Acad USA* 2006; 103:10889-10894.
35. White DE, Kurpios NA, Zuo D, *et al.* Targeted disruption of beta1-integrin in a transgenic mouse model of human breast cancer reveals an essential role in mammary tumor induction. *Cancer Cell* 2004; 6:159-170.
36. Stupack DG, Cheresh DA. Apoptotic cues from the extracellular matrix: regulators of angiogenesis. *Oncogene* 2003; 22:9022-929.
37. Kumar CC. Integrin alpha v beta 3 as a therapeutic target for blocking tumor-induced angiogenesis. *Curr Drug Targets* 2003; 4:123-131.
38. Oshita F, Kameda Y, *et al.* High expression of integrin beta 1 and p53 is a greater poor prognostic factor than clinical stage in small-cell lung cancer. *Am J Clin Oncol* 2004; 27:215-219.
39. Vonlaufen A, Wiedle G, *et al.* Integrin alpha(v)beta(3) expression in colon carcinoma correlates with survival. *Mod Pathol* 2001; 14:1126-1132.
40. Nikkola J, Vihinen P, *et al.* Integrin chains beta1 and alphav as prognostic factors in human metastatic melanoma. *Melanoma Res* 2004; 14:29-37.
41. Chung J, Mercurio AM. Contributions of the alpha6 integrins to breast carcinoma survival and progression. *Mol Cells* 2004; 17:203-209.
42. Mercurio AM, Bachelder RE, *et al.* Autocrine signaling in carcinoma: VEGF and the alpha6beta4 integrin. *Semin Cancer Biol* 2004; 17:203-209.
43. Jodele S, Blavier L, *et al.* Modifying the soil to affect the seed: role of stromal-derived matrix metalloproteinases in cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25:35-43.
44. Bogenrieder T, Herlyn M, *et al.* Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* 2003; 22:6524-6536.
45. Nawrocki-Raby B, Gilles C, *et al.* Upregulation of MMPs by soluble E-cadherin in human lung tumor cells. *Int J Cancer* 2003; 105:790-795.
46. Syrigos KN, Harrington KJ, *et al.* Circulating soluble E-cadherin levels are of prognostic significance in patients with multiple myeloma. *Anticancer Res* 2004; 24:2027-2031.
47. Fornaro M, Manes T, *et al.* Integrins and prostate cancer metastases. *Cancer Metastasis Rev* 2001; 20:321-331.
48. Meerovitch K, Bergeron F, *et al.* A novel RGD antagonist that targets both alphavbeta3 and alpha5beta1 induces apoptosis of angiogenic endothelial cells on type1 collagen. *Vascul Pharmacol* 2003; 40:77-89.
49. Gutheil JC, Campbell TN, *et al.* Targeted antiangiogenic therapy for cancer using Vitaxin: a humanized monoclonal antibody to the integrin alphavbeta3. *Clin Cancer Res* 2000; 6:3056-3061.
50. Harms JF, Welch DR, *et al.* A small molecule antagonist of the alpha(v)beta3 integrin suppresses MDA-MB-435 skeletal metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2004; 21:119-128.
51. Weichert W, Knosel T, *et al.* ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol* 2004; 57:1160-1164.
52. Spizzo G, Went P, *et al.* High Ep-CAM expression is associated with poor prognosis in node positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 86:207-213.
53. Wirth T, Soeth E, *et al.* Inhibition of endogenous carcinoembryonic antigen (CEA) increases the apoptotic rate of colon cancer cells and inhibits metastatic tumor growth. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19:155-160.
54. Heinzlmann-Shwarz VA, Gardiner-Garden M, *et al.* Overexpression of the cell adhesion molecules DDR1, Claudin 3, and Ep-CAM in metaplastic ovarian epithelium and ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10:4427-4436.
55. Hirabayashi Y, Yamaguchi K, *et al.* Port-site metastasis after CO2 pneumoperitoneum: role of adhesion molecules and prevention with antiadhesion molecules. *Surg Endosc* 2004; 18:1113-1117.

56. Damiano JS, Dalton WS. Integrin-mediated drug resistance in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2000; 38:71-81.
57. Hansen M, Prior IA, *et al.* C-terminal sequences in R-Ras are involved in integrin regulation and in plasma membrane microdomain distribution. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311:829-838.
58. Shimada Y, Maeda M, *et al.* High serum soluble E-selectin levels are associated with postoperative haematogenic recurrence in esophageal squamous cell carcinoma patients. *Oncol Rep* 2003; 10:991-995.
59. Alexiou D, Karayiannakis AJ, *et al.* Serum levels of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumor surgery. *Eur J Cancer* 2001; 37:2392-2397.
60. Alexiou D, Karayiannakis AJ, *et al.* Clinical significance of serum levels of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in gastric cancer patients. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:478-485.
61. Shipman CM, Rogers MJ, *et al.* Biphosphonates- mechanisms of action in multiple myeloma. *Acta Oncol* 2000; 39:829-835.
62. Berenson JR. New advances in the biology and treatment of myeloma bone disease. *Semin Hematol* 2001; 38:15-20.
63. Adjei AA. Signal transduction pathway targets for anticancer drug discovery. *Curr Pharm Des* 2000; 6:361-378.
64. Adjei AA. Ras signaling pathway proteins as therapeutic targets. *Curr Pharm Des* 2001; 7:1581-1594.
65. Sillanpaa S, Antilla MA, *et al.* CD44 expression indicates favorable prognosis in epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9:5318-5324.
66. Kobel M, Weichert W, *et al.* Epithelial hyaluronic acid and CD44v6 are mutually involved in invasion of colorectal adenocarcinomas and linked to patient prognosis. *Virchows Arch* 2004; 445:456-464.
67. Kawano T, Nakamura Y, *et al.* Expression of E-cadherin, and CD44s and CD44v6 and its association with prognosis in head and neck cancer. *Auris Nasus Larynx* 2004; 31:35-41.
68. Nozoe T, Kohnoe S, *et al.* Significance of immunohistochemical overexpression of CD44v6 as an indicator of malignant potential in esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130:334-338.