

Células Estaminais – Implicações na Biologia e Terapêutica do Cancro

Stem Cells – Implications in Biology and Cancer Therapeutics

Dourado M¹, Cruz M², Enes M², Pereira M², Ribeiro ABS².

Faculdade de Medicina – Universidade de Coimbra, Portugal.

Resumo

Células estaminais são células indiferenciadas com capacidade de auto-renovação e divisão ilimitada que podem dar origem a células estaminais adicionais, mantendo o seu *pool*, e a células-filhas comprometidas com a diferenciação nos vários tipos celulares do organismo.

O conceito de que o cancro pode surgir de uma população celular com propriedades características das células estaminais surgiu há cerca de 150 anos. Contudo, só recentemente com os avanços no conhecimento da sua biologia e a possibilidade de as cultivar esta hipótese ganhou maior consistência.

Vários estudos revelaram que diferentes tipos de cancros humanos podem surgir da transformação maligna de células estaminais.

Unitermos

Células estaminais; células estaminais cancerígenas; cultura de células estaminais; terapêutica do cancro.

Abstract

Stem cells are undifferentiated cells with capacity of self-renewal and unlimited division giving origin to additional cells, keeping its pool, and daughter-cells compromised with differentiation in the several cell types of organism cells.

The cancer stem cell hypothesis arose about 150 years ago, but it has only gained impetus due to recent advances in stem cell biology and culture to measure self-renewal and more directly, to test the validity of this hypothesis.

Several studies have suggested that different tumours can arise from progenitor cells and tissue stem cells.

Key Words

Stem cells, cancer stem cells, Stem cells culture, cancer therapeutics.

INTRODUÇÃO

A ideia de que o cancro tem origem na célula tronco ou célula estaminal, designação que doravante passará a ser usada neste artigo, surgiu há cerca de 150 anos¹. O mais aprofundado conhecimento da biologia da célula estaminal, recentemente adquirido, tem permitido que a teoria da origem estaminal do cancro tenha vindo a ganhar mais consistência, representando esta abordagem um novo paradigma do cancro e da carcinogénese².

As células estaminais são células indiferenciadas com capacidade de auto-renovação e divisão ilimitada de que,

por exemplo, a elevada expressão de telomerasas é uma evidência. Podem originar várias linhas celulares (células progenitoras de linhagem) contribuindo para a homeostasia do organismo como um todo. Para tal, originam células estaminais adicionais, de forma a manter o seu *pool*, e as células-filhas comprometidas com a diferenciação nos vários tipos celulares do organismo^{3,4}.

Vários estudos evidenciam a existência de diferentes tipos de células estaminais, nos tecidos fetais, no sangue do cordão umbilical assim como em nichos celulares específicos de muitos tecidos/órgãos de mamíferos adultos como por exemplo na medula óssea, no cérebro, no olho, na pele, no coração, nos rins, no pulmão, no tubo digestivo, no pâncreas, no fígado, na mama, nos ovários e na próstata⁵. As células estaminais com maior potencial de diferenciação são as pluripotenciais embrionárias, que derivam da massa interna do blastocisto, e vão dar origem aos 276 tipos de células diferentes do corpo humano. O seu potencial pluripotente diminui à medida que progride a maturação,

¹ **Marília Dourado** - MD, PHD; Professora da Faculdade de Medicina - Universidade de Coimbra; Regente Fisiopatologia – Medicina Dentária.

² **Mariana Cruz** - Aluna do 6.º Ano - Faculdade de Medicina - Universidade de Coimbra.

² **Margarida Enes** - Aluna do 6.º Ano - Faculdade de Medicina - Universidade de Coimbra.

² **Marta Pereira** - Aluna do 6.º Ano - Faculdade de Medicina - Universidade de Coimbra.

³ **Ana Bela Sarmiento Ribeiro** - MD, PHD; Professora da Faculdade de Medicina - Universidade de Coimbra; Regente de Biologia Molecular Aplicada; Especialista em Hematologia Clínica.

confinando-se a nichos onde estão rodeadas pelas células maduras, diferenciadas, do tecido local, diferenciando-se preferencialmente em células do mesmo³ (Figura 1).

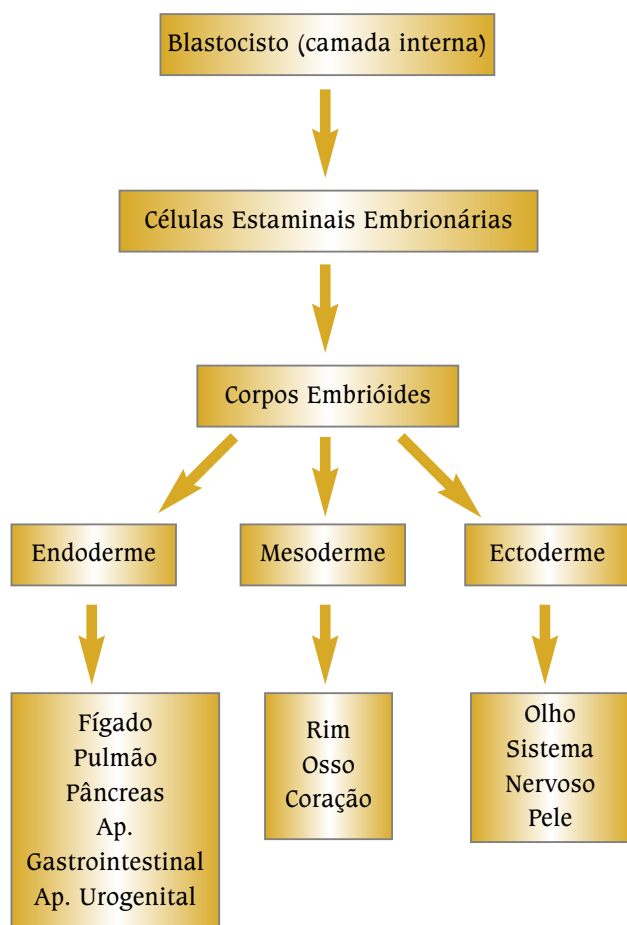


Figura 1 . Diagrama esquemático das possíveis vias de diferenciação das células estaminais embrionárias (cee). As cee podem dar origem a três camadas germinativas, endoderme, mesoderme e ectoderme, durante o desenvolvimento embrionário. Destas camadas vão originar-se as células que constituem os tecidos/órgãos do organismo. (Adaptado e modificado de Mimeault, M et al., 2006).

Algumas células estaminais, como as hematopoiéticas, têm uma elevada taxa de renovação de forma a assegurarem, em condições normais, o elevado número de células sanguíneas em circulação; outras, como as da pele e do cólon, apresentam um crescimento lento, mas constante; enquanto outras, como as células estaminais adultas, mantêm-se quiescentes nos seus nichos por períodos variáveis de tempo. Estas poderão ser activadas por diversos estímulos como por exemplo a lesão dos tecidos, sendo fundamentais na sua reparação, ou por diversos factores de crescimento, num processo sempre rigorosamente controlado que envolve diferentes vias de sinalização - como as vias Hedgehog, Wnt e Notch. Em condições normais estas vias estão envolvidas no processo de desenvolvimento embrionário, mas a sua disfunção foi já identificada em diversos tipos de cancro^{3, 4, 5}.

Deste modo, a identificação das células estaminais cancerígenas e a sua manutenção em cultura, tem permitido estudar o seu papel na etiopatogenia de várias doenças, particularmente de diversos tipos de cancro, permitindo melhorar o prognóstico e a terapêutica.

Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão sobre o papel das células estaminais na biologia e terapêutica do cancro.

CULTURA DE CÉLULAS ESTAMINAIS – ALGUMAS POTENCIALIDADES E APLICAÇÕES

A cultura de células estaminais humanas veio de certo modo resolver algumas das dificuldades e limitações que a cultura de outro tipo de células apresentava. No entanto, as diferentes propriedades que caracterizam as células estaminais, obrigam-nos a considerar as vantagens e as desvantagens da sua utilização em cultura. As maiores vantagens das células estaminais embrionárias residem na possibilidade de se isolar uma população celular pura na sua pluripotência e crescimento indefinido⁶. Por outro lado, a presença de marcas imunológicas do tecido/órgão de origem, a necessidade de se controlar o crescimento evitando o aparecimento de alterações características de malignidade, a necessidade de se controlar a diferenciação e a expressão de genes embrionários/fetais constituem algumas desvantagens⁷. Por seu lado, as células estaminais somáticas têm capacidade de desdiferenciação em células pluripotentes, expressam genes adultos e apresentam desenvolvimento plástico; podem ser utilizadas para transplantes autólogos sem o risco de desencadear reacção imunológica. As suas grandes desvantagens relacionam-se com a difícil obtenção de populações celulares puras, a ausência de crescimento indefinido *in vitro*, a capacidade de desencadear reacções alogénicas e a dificuldade da sua manutenção num estado indiferenciado, em cultura, durante longos períodos de tempo. Este último aspecto dificulta a sua utilização com objectivos terapêuticos, devido à senescência celular⁶.

Podemos obter células estaminais a partir do sangue do cordão umbilical, da medula óssea, uma via mais invasiva mas que permite obter maior número de células estaminais e do sangue periférico, sendo este último o mais utilizado actualmente.

A colheita a partir do sangue do cordão umbilical tem a vantagem de permitir obter um maior número de células por unidade de volume, comparativamente ao sangue periférico e à medula óssea. Contudo, a quantidade de sangue habitualmente recolhida é pequena e, portanto, obtém-se menor número de células, comparativamente às isoladas a partir da medula óssea. Esta limitação levou os investigadores a desenvolver técnicas para a

sua expansão *ex vivo* através da sua cultura *in vitro* ⁸. A colheita feita após o nascimento é indolor, e sem risco para o recém-nascido e para a mãe, e as células estão imediatamente disponíveis para transplante. Este método está associado a menor incidência de doença aguda do enxerto contra hospedeiro, e a maior tolerância em termos de compatibilidade HLA (Human Leucocyte Antigen) ^{7,9}.

A colheita de células estaminais a partir do sangue periférico tem a vantagem de ser um método pouco invasivo, que permite contornar o pequeno número de células existentes em circulação colhendo-se maior quantidade de sangue. Outra possibilidade de aumentar o número de células estaminais no sangue periférico é fazer a sua mobilização à periferia a partir da medula, por acção de factores de crescimento ⁹.

Apesar da cultura de células estaminais humanas levantar questões éticas e legais, veio facilitar a resolução de algumas limitações dos restantes modelos de cultura de células. Contudo, a aplicação das pesquisas efectuadas com estas células nos diferentes campos da Medicina Humana, desde a prevenção ao diagnóstico e tratamento, obriga ao aprofundamento dos conhecimentos sobre as suas propriedades biológicas ¹⁰.

Deste modo, a utilização de células estaminais na investigação básica e aplicada, tem permitido o estudo dos factores e mecanismos genéticos que determinam a diferenciação celular e a especialização dos tecidos. Permite ainda identificar a origem bioquímica e molecular de algumas doenças resultantes da desregulação da divisão celular ou da deficiência nos mecanismos de diferenciação, permitindo o desenvolvimento de novos fármacos dirigidos aos defeitos moleculares. Neste sentido, podem ser usadas como modelos para testar o efeito ou a toxicidade de fármacos, quer em substituição quer como complemento dos sistemas *in vitro*, ou dos modelos animais ^{7,9}.

Vários estudos utilizando células estaminais têm procurado demonstrar a sua utilidade em Medicina Humana, nomeadamente no tratamento de múltiplas patologias como doenças musculares, neurodegenerativas (doenças de Parkinson, Alzheimer, do neurónio motor e esclerose múltipla) e nas lesões da espinhal medula. Tem-se procurado igualmente avaliar a sua potencial utilização em endocrinologia (diabetes); em hepatologia (cirrose); em dermatologia (feridas abertas; queimaduras) na doença cardiovascular (doença coronária e acidente vascular cerebral); na reparação de cartilagens; em hematologia (leucemias, linfomas) e na doença oncológica, no geral ^{11, 12, 13, 14, 15}.

CÉLULAS ESTAMINAIS E CANCRO

O conceito de células estaminal cancerígena

Nos últimos anos, fruto de múltiplos estudos científicos, o conhecimento da biologia das células estaminais e o reconhecimento do seu papel na ontogénese e na homeostasia dos organismos adultos sofreu um enorme impulso. Com efeito, estas células presentes em quase todos os tecidos/órgãos têm sido objecto de múltiplos estudos nas mais variadas áreas, por exemplo na carcinogénese humana onde, contudo, o seu papel está longe de estar totalmente esclarecido¹. Recentemente, com os avanços da Biologia Molecular e o desenvolvimento de novos modelos animais novos horizontes se perspectivam ².

Em 1961 postulou-se que as células estaminais específicas de um tecido, as células estaminais com diferenciação comprometida com determinado tecido, podem estar na origem de cancro¹⁶. Cerca de 10 anos mais tarde, propôs-se que os cancros representam uma interrupção da maturação das células estaminais. O estudo dos carcinomas embrionários e dos teratocarcinomas há muito que fascina os investigadores na área da oncologia, uma vez que derivam de células embrionárias e dão origem a diversas linhas celulares¹⁶.

A hipótese da origem do cancro residir em células estaminais pode explicar a heterogeneidade morfológica e funcional detectada na maioria dos tumores malignos. Por outro lado, as células cancerígenas têm propriedades em comum com as células embrionárias, ou seja ambas apresentam rápida divisão celular, capacidade de auto-renovação e de diferenciação. Além da capacidade proliferativa ilimitada, as células estaminais cancerígenas apresentam mecanismos de resistência à apoptose, expressão activa de telomerase e fenótipo invasivo, características que podem ser resultantes de mutações genéticas e alterações epigenéticas^{2, 17, 18, 19}. De facto, estas células, pela sua longevidade, estão sujeitas acumular mais mutações (condição *sine qua non* à carcinogénese). Por outro lado, algumas células neoplásicas apresentam em comum com as células estaminais algumas características anteriormente descritas. Com efeito, a capacidade de ancoragem independente, até há pouco considerada marcador de transformação celular, é hoje reconhecida como propriedade de células estaminais de tecidos normais². Deste modo, a teoria de que os cancros surgem da transformação de células estaminais e das suas descendentes imediatas que adquirem a capacidade de auto-renovação por mutações, é bastante apelativa (Figura 2).

A hipótese de que uma das etapas-chave na transformação maligna seja a perda do rigoroso controlo da renovação celular é actualmente defendida por vários autores¹⁹. Em condições normais, a auto-renovação das

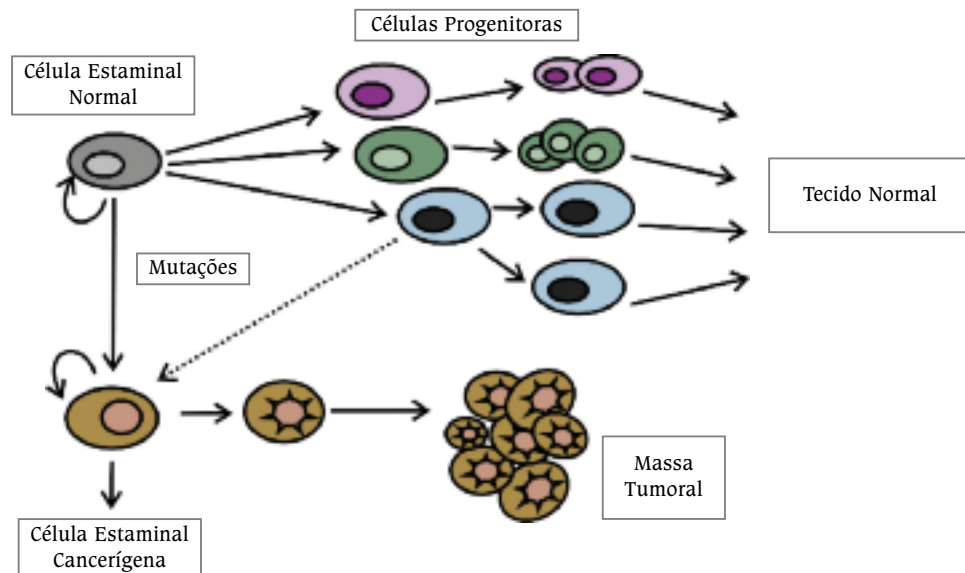


Figura 2 . A origem da célula estaminal cancerígena. Os tecidos normais derivam de uma célula estaminal central que cresce e se diferencia, dando origem a populações progenitoras e maduras. As células estaminais apresentam a propriedade de auto-renovação, potencial para formar múltiplas linhas celulares (representado pelas células de diferentes cores) e grande capacidade proliferativa. As células estaminais cancerígenas surgem por mutações em células estaminais normais ou células progenitoras, que subsequentemente crescem e se diferenciam, para formar um tumor primitivo. Tal como as células estaminais normais, as cancerígenas tem capacidade de auto-renovação, originar outras populações heterogêneas de células-filhas e proliferar extensivamente (*Adaptado e modificado de Jordan CT et al., 2006*).

células estaminais é regulada por várias vias de sinalização celular. As vias de sinalização Wnt, Notch e Hedgehog têm sido implicadas na regulação da auto-renovação e diferenciação de células estaminais hematopoiéticas, neuronais e mamárias. A desregulação destas vias tem sido descrita em várias neoplasias, nomeadamente no cancro do cólon (via Wnt), na leucemia linfoblástica aguda de células T, nos câncros do colo do útero e da mama (Via Notch), nos câncros do pâncreas, estômago, próstata, mama e basilioma (via Hedgehog), podendo a presença de células estaminais

ser evidenciada pela presença de antígenos marcadores de superfície, como o CD133^{2,20}.

Apesar da controvérsia, a teoria da origem do cancro numa subpopulação de células com características de células estaminais tem ganho consistência². Como se representa na Figura 3, esta subpopulação parece ser a fonte de todas as células malignas do tumor primário, capazes resistir aos fármacos anti-cancerígenos e de originar metástases à distância²⁰. Assim, apesar da possível remissão clínica, a presença de células estaminais

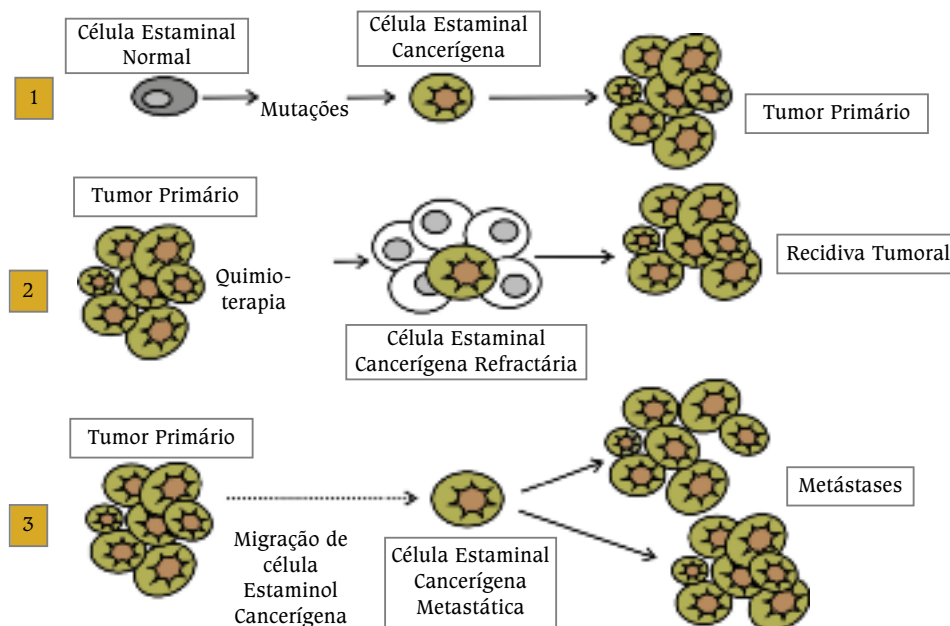


Figura 3 . Importância da célula estaminal cancerígena no desenvolvimento tumoral e na metastização. Existem três cenários possíveis para os tumores nos quais intervêm as células estaminais cancerígenas. No primeiro, a mutação de uma célula estaminal normal ou de uma célula progenitora pode criar uma célula estaminal cancerígena, que irá depois gerar o tumor primário (1). No segundo, durante o tratamento com quimioterapia a maioria das células do tumor primário podem ser destruídas mas se as células estaminais cancerígenas não são erradicadas, o tumor pode crescer e causar recidiva (2). No terceiro, as células estaminais cancerígenas originárias do tumor primário podem migrar para locais distantes e originar metástases (3). (*Adaptado e modificado de Jordan CT et al., 2006*).

cancerígenas residuais, resistentes aos tratamentos convencionais, pode ser responsável pela falência da terapêutica e, conseqüentemente, pela recidiva tumoral. Sendo assim, a identificação precoce destas células estaminais cancerígenas permitirá avaliar a doença residual mínima com maior eficácia, detectar recidivas precoces e perspectivar tratamentos mais eficazes²⁰.

No carcinoma da próstata, por exemplo, existem evidências de que a persistência negativa do receptor do androgénio nas células progenitoras ou nas células estaminais (células iniciadoras do carcinoma da próstata) habitualmente resistentes à quimioterapia convencional podem contribuir para a recorrência do tumor²¹. Por outro lado, a elevada mortalidade associada ao cancro deve-se em parte à sua capacidade invasiva e metastática, o que reforça a hipótese da metastização de algumas células tumorais estar relacionada com a capacidade inata de migração das células estaminais⁴. Isto é particularmente pertinente para as células estaminais derivadas da placa neural que originam o melanoma, o neuroblastoma e os tumores de pequenas células do pulmão, levando-nos a concluir pela importância de compreender melhor a forma como ocorre a migração dessas células, de maneira a melhor entender o processo de metastização⁴.

Deste modo, a caracterização funcional *in vitro* e *in vivo* das células estaminais e das células progenitoras isoladas dos tumores primários e secundários, poderá permitir identificar novos modelos em que as alterações genéticas e fenotípicas possam ser comparadas com a clínica²¹. Por exemplo, sabe-se hoje que o receptor das quimiocinas CXCR4, encontrado em células estaminais hematopoiéticas normais, desempenha um papel importante na promoção de metástases em diversos tumores, incluindo o da mama e o da próstata²². De igual modo, estudos sugerem que a via de sinalização Hedgehog regula a produção de VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) pelas células estaminais, pelas células progenitoras e pelas células estaminais mamárias tumorais. Demonstrou-se ainda que o curso clínico das micrometástases pode reflectir as características de disseminação das células estaminais. Mais de 30% das mulheres com diagnóstico recente de cancro da mama e de homens com cancro da próstata apresentam micrometástases na medula óssea. Apesar disto, cerca de 50% desses doentes não desenvolveram clinicamente doença metastática após 10 anos de evolução²³. Uma explicação para este fenómeno poderá ser o facto de que, embora as células estaminais e respectivas descendentes mais diferenciadas sejam capazes de formar micrometástases, apenas as células estaminais possuem a capacidade de se auto-renovarem e desenvolverem metástases macroscópicas. Neste sentido, surgiu a hipótese de que as células estaminais cancerígenas se mantêm em quiescência nos locais metastáticos até serem activadas por sinais apropriados do microambiente².

Células estaminais cancerígenas: novos paradigmas

Ao assumir as células estaminais e as suas descendentes imediatas, como alvo da transformação maligna, pode considerar-se que o risco de cancro está directamente relacionado com o número de células estaminais-alvo, permitindo quantificar o risco de cancro, a sua prevenção e tratamento².

Seguindo esta linha de pensamento, é necessário reconsiderar os meios usados na detecção precoce das neoplasias. Os marcadores tumorais mais frequentemente utilizados são produtos de células neoplásicas diferenciadas, por exemplo o PSA (*Prostate Specific Antigen*) no cancro da próstata e o CA-125 no cancro do ovário. Sendo o objectivo a detecção precoce da neoplasia, os estudos devem ser direccionados para a detecção de marcadores moleculares produzidos por células estaminais cancerígenas. Vários estudos têm revelado a importância dos perfis de expressão molecular tumoral no prognóstico das neoplasias. Assim, o conhecimento da assinatura genética dessas células poderá fornecer informação importante orientadora dos procedimentos a tomar perante determinada neoplasia. A apoiar esta teoria está o trabalho desenvolvido por Glinsky *et al.*²⁴ que demonstra que a expressão do gene *BMI-1*, implicado na auto-renovação das células estaminais, se associa a pior prognóstico em cerca de dez tipos diferentes de cancro^{2, 24}.

Considerando as células estaminais e as suas descendentes directas o *locus* primário da carcinogénese, estratégias que promovam a diminuição desse *pool* celular poderão diminuir o risco de cancro contribuindo para a sua prevenção, como por exemplo a utilização do tamoxifeno no cancro da mama. Medidas indutoras da apoptose ou da diferenciação das células estaminais cancerígenas, com conseqüente perda da capacidade de auto-renovação, poderão também representar uma abordagem eficaz na prevenção do cancro⁹.

Por outro lado, sabendo que a alteração da diferenciação das células estaminais cancerígenas é um dos mecanismos envolvidos no cancro, o desenvolvimento de agentes que actuem especificamente em células estaminais “iniciadas” poderá constituir uma intervenção terapêutica em estadios mais precoces da carcinogénese, antes mesmo de ocorrer instabilidade genética significativa².

Os agentes anti-neoplásicos são classicamente desenvolvidos e testados em modelos animais e em ensaios clínicos, sendo o sucesso terapêutico avaliado em termos de diminuição da massa tumoral em pelo menos 50%. Contudo, sendo as células estaminais cancerígenas uma minoria da população celular tumoral, parece

razoável assumir que a diminuição de tamanho da neoplasia reflecte os efeitos desses agentes nas células diferenciadas mais do que nas células estaminais cancerígenas. Isto parece explicar o facto de em várias neoplasias avançadas a diminuição da massa tumoral e/ou do título dos marcadores tumorais não se associar ao aumento da sobrevida. Surge assim a necessidade de desenvolver novos paradigmas de sucesso terapêutico e novos agentes anti-neoplásicos que actuem nas células estaminais cancerígenas².

APLICAÇÃO DAS CÉLULAS ESTAMINAIS NA TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA

Moduladores de sinalização celular e células estaminais

Como referido anteriormente, diversos cancros humanos podem resultar da transformação de células estaminais em células progenitoras tumorais. Tal transformação é consequência da activação aberrante de vias de sinalização celular envolvidas no desenvolvimento das células estaminais adultas por alterações genómicas somáticas como mutações, deleções, amplificações e rearranjos cromossómicos. As células progenitoras tumorais, por sua vez, podem dar origem a uma população heterogénea de células tumorais com diferenciação aberrante, divisão ilimitada e resistência à apoptose. Deste modo, a eliminação destas células progenitoras tumorais, com propriedades semelhantes às das células estaminais, e que são responsáveis pela formação do tumor, constitui um desafio ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas curativas mais eficazes contra as formas mais agressivas de cancro^{3, 25, 26}.

A expressão e actividade aberrante de diversas hormonas, factores de crescimento, citocinas e quimiocinas [androgéneos, estrogéneos, EGF (*Epidermal Growth Factor*) e TGF- α (*Transforming Growth Factor alfa*)/EGFR (*EGF-Receptor*), IGF/IGFR (*Insulin Growth Factor/IGF-Receptor*), SHH/SMO (*Sonic Hedgehog Homolog/Smoothened*), Wnt/ β -catenina, Notch, TGF- β (TGF-beta) e SDF-1 (*Stromal Derived factor-1*)/CXCR4) e de moléculas sinalizadoras com potencial tumorigénico (telomerase, fosfatidilinositol 3-cinase, NF- κ B (*Nuclear Factor-kB*) e Myc-1 (*Myelocystomatosis*)], pode contribuir para o crescimento sustentado e sobrevivência das células estaminais, bem como para a sua transformação maligna durante a iniciação e progressão tumoral. Assim, todas estas moléculas podem constituir bons alvos terapêuticos dirigidos à eliminação das células progenitoras tumorais, permitindo induzir a regressão tumoral completa^{3, 25}.

Neste sentido, têm sido desenvolvidos fármacos capazes de bloquear as cascatas sinalizadoras que estão

frequentemente desreguladas na diferenciação das células estaminais, como a sinalização Hedgehog, Wnt/ β -catenina e Notch, entre outras^{25, 27, 28}.

Na figura 4-A, representa-se a cascata de sinalização celular Hedgehog cuja activação aberrante pode estar envolvida no crescimento e metastização das células malignas do glioma, de cancros gastrointestinais, do pâncreas, da próstata, da mama e de pequenas células do pulmão. Assim, o bloqueio desta cascata tumorigénica representa uma abordagem promissora para travar a iniciação e a progressão destas formas agressivas de cancro (Figura 4-A). De salientar que alguns fármacos em estudo, como o inibidor da SMO, um alcalóide de ciclopamina, ou o anticorpo anti-SHH, inibem a via de sinalização Hedgehog nas células cancerígenas metastáticas, impedindo o seu crescimento e estimulando a respectiva apoptose^{3, 25}.

Além do referido, a desregulação da via de sinalização Wnt/ β -catenina, Figura 4-B, pode também contribuir para a transformação maligna de células progenitoras tumorais e progressão do cancro colo-rectal, do tracto gastro-intestinal, do carcinoma do pâncreas, mama, próstata, assim como do carcinoma do pulmão de não pequenas células, entre outros. Assim, a actuação sobre esta via representa uma estratégia para o tratamento dessas formas de cancro, (Figura 4-B). Neste sentido estão a ser desenvolvidos inibidores proteicos da Wnt (ex. Wnt-inhibitory factor-1) e um anticorpo anti-Wnt selectivo^{3, 25}.

Da mesma forma, a alteração na cascata de sinalização Notch parece participar no desenvolvimento de alguns cancros como a leucemia linfoblástica aguda de células T, linfomas, carcinomas colo-rectal, pancreático, da mama, ovário e pulmão. Assim, a inibição das β e α -secretases, proteases que podem clivar o domínio intra-celular do receptor transmembranar Notch, pode evitar a sua translocação para o núcleo inibindo a transcrição dos genes, representando um potencial alvo terapêutico para o tratamento desses cancros^{3, 25}.

Pelo facto de várias vias de sinalização celular cooperarem entre si na estimulação do crescimento, invasão e disseminação metastática, com o bloqueio simultâneo dessas vias adquire-se maior eficácia e segurança terapêutica, ao mesmo tempo que diminuem os efeitos secundários associados ao uso de altas doses desses agentes, quando usados isoladamente. Para este tipo de estudos tem sido fundamental a utilização de cultura de células de vários tumores que permite seleccionar qual a melhor combinação de tratamentos, a dose ideal e a sequência de administração dos fármacos, de modo a aumentar a eficácia clínica com menor toxicidade^{3, 25}.

CONCLUSÕES

O cancro pode ter origem numa pequena população de células estaminais tumorais com mecanismos de auto-renovação e sobrevivência idênticos aos das células estaminais normais. Por seu lado, as células estaminais tu-

morais residuais podem sobreviver num estado quiescente por vários anos após a remissão podendo, em determinadas condições, contribuir para posterior recidiva e metastização. Portanto, actuando sobre estas células conseguir-se-á erradicar as células iniciadoras do tumor, superando a limitação da quimioterapia convencional.

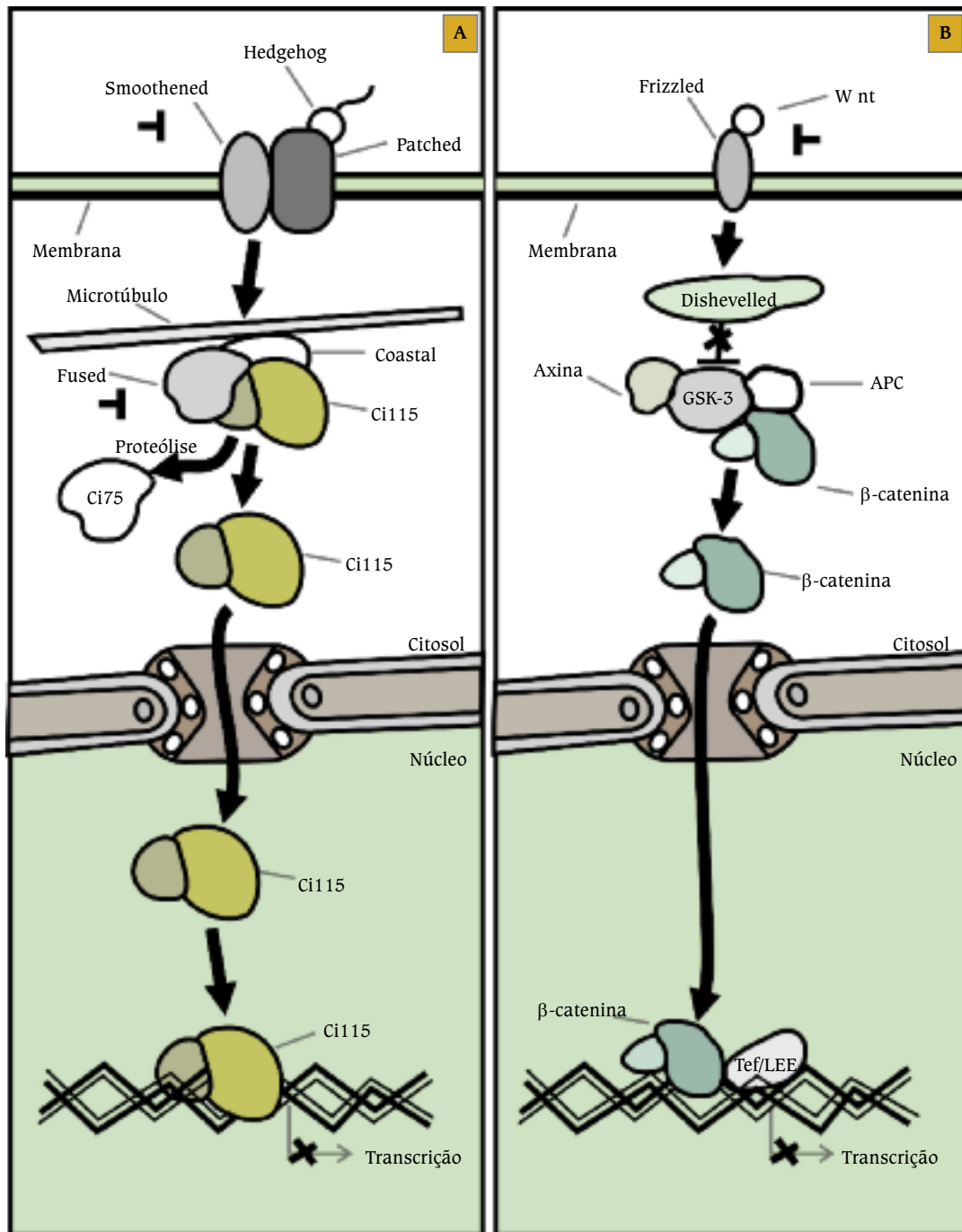


Figura 4 . Estratégias propostas para o desenvolvimento de novas terapias baseadas na actuação sobre as vias de Hedghog e Wnt. Em a) representa uma hipótese de bloquear a ligação do polipeptídeo Hedgehog (Hh) à proteína Patched (Pt) na superfície de uma célula alvo. Desta forma se poderá impedir a libertação da proteína Smoothened (Sm), interrompendo a via de sinalização citosólica responsável pela activação de genes envolvidos na diferenciação e sobrevivência celular. A figura mostra ainda a hipótese de se bloquear a ruptura do complexo proteico (→) constituído pelas proteínas Fused e Coastal e pelo factor de transcrição nuclear Cubitis interruptus (Ci), impedindo a consequente libertação da subunidade Ci155 deste factor de transcrição, a sua migração para o núcleo e a expressão de genes. Em b) → representa uma estratégia terapêutica que visa bloquear a ligação dos polipeptídeos Wnt a receptores da superfície celular da família Frizzled (Fz). Desta forma se poderá bloquear a activação da via de sinalização citosólica que promove a inibição da proteína cinase GSK-3 (*Glycogen Synthase Kinase 3*) e a estabilização da β-catenina, (ou bloquear directamente a este nível, ✕), impedindo esta de migrar para para o núcleo e de activar a transcrição de genes. (adaptado de Sarmiento Ribeiro, A. B, et al., 2007; Murielle Mimeault et al., 2006; Behbod F. et al., 2004).

Trabalhos recentes, com cultura de células estaminais, identificaram a presença de cascatas sinalizadoras mito-génicas que são activadas durante o processo normal de auto-renovação e diferenciação de células estaminais adultas, fetais e embrionárias, como as vias de sinalização Hedgehog, Wnt/ β -catenina e Notch. Este facto oferece a possibilidade de diferenciar estes tipos de células estaminais em linhagens específicas de células maduras *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, através da utilização de factores de crescimento e citocinas apropriados, para uso em investigação básica, bem como na prática clínica, por exemplo, na área da transplantação.

Assim, é possível conceber novas abordagens terapêuticas moleculares baseadas no bloqueio de determinados elementos das referidas vias de sinalização, de que são exemplo alguns fármacos em estudo, como o inibidor da SMO, o anticorpo anti-SHH, ou ainda o anticorpo anti-Wnt selectivo, e inibidores proteicos da Wnt, entre outros.

Por tudo o que foi exposto, podemos concluir que o desenvolvimento de modelos experimentais onde, particularmente, a cultura de células estaminais tem dado um importante contributo para a melhor compreensão dos mecanismos da oncogénese e para o desenvolvimento de novas terapêuticas dirigidas a alvos moleculares precisos. Deste modo tornar-se-á possível eliminar as células estaminais cancerígenas e com elas erradicar o cancro.

Conflito de interesses: Nada a declarar.

REFERÊNCIAS

- Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;51:1-28.
- Wicha MS, Liu S, Dontu G. Cancer Stem Cells: An Old Idea - A Paradigm Shift. *Cancer Res* 2006 Feb 15;66(4):1883-1890.
- Mimeault M, Batra SK. Recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells* 2006;24(11):2319-2345.
- Dean M. Cancer stem cells: redefining the paradigm of cancer treatment strategies. *Mol Interv* 2006;6:140-148.
- Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, Yamanaka N, Nakashima H, Nomura M, *et al.* Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res* 2004 Sep 1;64:6071-4.
- Tannishtha Reya, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature* 2001 Nov 1;414(6859):105-111.
- Vieira M, Gomes A, Castelo-Branco G, Santos R. Células estaminais em Obstetrícia e Ginecologia, parte I: conceitos gerais e aplicações. Crioestaminal. *Rev Obstetr Ginecol* 2005 Jun;299-305. Available from: URL: <http://www.crioestaminal.pt/web/eng/pdfs/C%C3%A9lulas%20estaminais%20em%20Obstetr%C3%ADcia%20e%20Ginecologia.pdf>
- Mannello F, Tonti GA. Concise Review: No Breakthroughs for Human Mesenchymal and Embryonic Stem Cell Culture: Conditioned Medium, Feeder Layer, or Feeder-Free; Medium with Fetal Calf Serum, Human Serum, or Enriched Plasma; Serum-Free, Serum Replacement Nonconditioned Medium, or Ad Hoc Formula? All That Glitters Is Not Gold! *Stem Cells* 2007 Jul;25(7):1603-1609.
- Freshney RI. Culture of animal cells – A manual of Basic technique. 2nd ed. New York: Wiley- Liss, Inc.;1987.
- Stem cells and the Future of Regenerative Medicine - Executive Summary. National Academy of Sciences 2002. Available from: URL: <http://books.nap.edu/openbook.php?isbn=0309076307&page=1>
- Kim SU, Vellis J. Stem cell-based cell therapy in neurological diseases: A review. *J Neurosci Res* 2009 Mar 19;87(10):2183-2200. [Epub ahead of print].
- Schwartz P H. The potential of stem cell therapies for neurological diseases. *Expert Rev Neurother* 2006;6(2):153-161.
- Brezillon N, Kremsdorf DC, Weiss M. Cell therapy for the diseased liver: from stem cell biology to novel models for hepatotropic human pathogens. *Dis Model Mech* 2008;1:113-130.
- Cao F, Sun D, Li C, Narsinh K, Zhao Li, Li X, *et al.* Long-term myocardial functional improvement after autologous bone marrow mononuclear cells transplantation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: 4 years follow-up. *Eur Heart J* 2009 Jun 9; [Epub ahead of print].
- Sung J-M , Cho H-J , Yi H , Lee C-H, Kim H-S , Kim D-K. Characterization of a stem cell population in lung cancer A49 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371:163–167.
- Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 1961;14:213–222.
- Payão SLM, Segato R, Santos RR. Controle genético das células-tronco humanas cultivadas. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2009 ahead of print Epub May 08, doi: 10.1590/S1516-84842009005000021.
- Armanios M, Greider CW. Telomerase and cancer stem cells. *Cold spring Harb Symp Quant Biol* 2005;70:205-208.
- Clarke M F. Epigenetic Regulation of Normal and Cancer Stem Cells. *Ann N Y Acad Sci* 2005 Jun;1044: 90–93.
- Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells: mechanism of disease. *New Engl J Med* 2006 Sept 21;355(12):1253-1261.
- Mimeault M, Mehta PP, Hauke R, Batra SK. Functions of normal and malignant prostatic stem/ progenitor cells in tissue regeneration and cancer progression and novel targeting therapies. *Endocr Rev* 2008 Apr;29(2):234-252.
- Darash-Yahana M, Pikarsky E, Abramovitch R, Zeira E, Pai B, Karplus R, *et al.* Role of high expression levels of CXCR4 in tumor growth, vascularization, and metastasis. *FASEB J* 2004 Aug;18(11):1240–1242.
- Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, *et al.* Pooled analysis of boné marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:793-802
- Glinksky GV, Berezovska O, Glinkii AB. Microarray analysis identifies a death-from-cancer signature predicting therapy failure in patients with multiple types of cancer. *J Clin Invest* 2005 Jun;115(6):1503–1521.
- Behbod F, Rosen JM. Will cancer stem cells provide new therapeutic targets? *Carcinogenesis* 2005 Apr;26(4):703-711.
- Eyler CE, Rich JN. Survival of the Fittest: Cancer Stem Cells in Therapeutic Resistance and Angiogenesis. *J Clin Oncol* 2008 Jun 10;26(17):2839-2845.
- Luu HH, Zhang R, Haydon RC, Rayburn E, *et al.* Wnt/ β -catenin signalling pathway as a novel cancer drug target. *Curr Cancer Drug Targets* 2004;4:653-671.
- AsterJC. Deregulated NOTCH signalling in acute T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma: new insights, questions and opportunities. *Int J Hematol* 2005; 82:295-301.

Submetido em 05/02/2010.

Aprovado para publicação em 14/04/2010.