

Heterogeneidade dos tumores cerebrais

Brain Tumor Heterogeneity

Telmo Augusto Barba Belsuzarri¹ Maick Willen Fernandes Neves¹ Otávio Augusto da Costa²
Diego Alves Soares² Fernando Antônio de Melo Filho¹ Mariana Mazzuia Guimarães¹
Tiago Fernandes Gonçalves¹ Wolnei Marques Zeviani¹ João Flávio Mattos Araújo¹

¹ Department of Neurosurgery, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

² Departamento de Neurocirurgia, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

Address for correspondence Telmo Augusto Barba Belsuzarri, MD, Departamento de Neurocirurgia, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Avenida John Boyd Dunlop s/n, Campinas, SP, 13060904, Brazil (e-mail: telmobelsuzarri@hotmail.com).

Arq Bras Neurocir

Resumo

Palavras-Chave

- ▶ tumor cerebral
- ▶ heterogeneidade tumoral
- ▶ células-tronco glioma
- ▶ genética
- ▶ epigenética
- ▶ microambiente

Abstract

Keywords

- ▶ brain tumor
- ▶ tumor heterogeneity
- ▶ glioma stem cell
- ▶ genetics
- ▶ epigenetics
- ▶ microenvironment

Heterogeneidade tumoral significa que diferentes células tumorais levam a lesões morfológicas e fenotípicas distintas, com diferentes morfologias celulares, expressão gênica, metabolismo, microambiente, proliferação e possibilidade de lesões metastáticas. A heterogeneidade dos tumores cerebrais malignos tem sido o foco essencial de pesquisas recentes devido às interações notáveis entre genética, epigenética, microambiente e células-tronco glioma, todas mediadas por inflamação crônica. Tumores cerebrais ainda são um desafio no que tange a medicação e doença, podendo, com a carência de opções terapêuticas aliada a resultados insatisfatórios, ocorrer devido à heterogeneidade do tumor e seus múltiplos mecanismos de resistência à quimio e radioterapia. Foi realizada uma revisão da literatura na base de dados Pubmed usando os termos: *brain tumor, heterogeneity, epigenetic, microenvironment, e glioma stem cells*.

Tumor heterogeneity is the concept that different tumor cells provide distinct biomorphological lesions, gene expressions, proliferation, microenvironment and graduated capacity of metastatic lesions. Brain tumor heterogeneity has been recently discussed about the interesting interaction of chronic inflammation, microenvironment, epigenetics and glioma stem cells. Brain tumors remain a challenge with regards to medication and disease, due to the lack of treatment options and unsatisfactory results. These results might be result of the brain tumor heterogeneity and its multiple resistance mechanisms to chemo and radiotherapy.

Introdução

Heterogeneidade tumoral significa que diferentes células tumorais levam a lesões morfológicas e fenotípicas distintas, com diferentes morfologia celular, expressão gênica, metabolismo, microambiente, proliferação e possibilidade de lesões metastáticas.

Os tumores cerebrais malignos têm resultados insatisfatórios, apesar dos tratamentos multimodais avançados com neurocirurgia, oncologia e quimioterapia. Em adultos, o glioblastoma multiforme (GBM) é o tumor cerebral maligno mais agressivo e mais comum, com uma sobrevida global dos pacientes de 4–6 meses sem tratamento, e de 14 meses com terapia multimodal.¹

received
October 22, 2017
accepted
December 18, 2017

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0038-1625962>.
ISSN 0103-5355.

Copyright © by Thieme Revinter
Publicações Ltda, Rio de Janeiro, Brazil

License terms



Além disso, os tumores cerebrais representam a principal causa de mortalidade em crianças, com o meduloblastoma (MB) sendo a primeira causa.² Recentemente, estudos transcricionais mostraram subgrupos moleculares distintos do MB, que diferem entre si em dados demográficos, transcriptomas, genética, e prognóstico. Esses estudos não só estabeleceram os subtipos genéticos, como também abriram o caminho para a patogênese do MB e a possibilidade de precursores de células-tronco cerebelares.^{3,4}

A falta de tratamentos adequados para os tumores cerebrais pode ocorrer pela heterogeneidade tumoral, que é controlada por pelo menos dois mecanismos que podem ser integrados por meio de evolução clonal e hierarquias, e pela hipótese de células-tronco cancerígenas.⁵

Neste estudo, analisaremos a possível integração das hipóteses genômica, epigenômica, de células-tronco, da inflamação crônica e do microambiente desses tumores cerebrais.

O modelo de evolução clonal e o modelo de célula-tronco

O modelo de evolução clonal indica que todas as células cancerosas podem proliferar-se, modificar-se, e regenerar-se devido a mutações aleatórias, criando subpopulações clonais dentro do tumor.⁵

Por outro lado, a hipótese da célula-tronco propõe que os cânceres sejam hierarquicamente organizados, com células portadoras das mesmas propriedades das células-tronco no ápice dessa organização.⁵

Os dois modelos podem ser integrativos, e estudos recentes defenderam a existência de células-tronco cancerígenas (CTCs) e mostraram, em laboratório, que essas células têm maior potencial tumorigênico, e são potencialmente mais resistentes à radiação e quimioterapia.^{6,7}

Células-tronco glioma

O GBM tem vários aspectos, como polimorfismo e heterogeneidade celular, o que o torna uma lesão essencial para a pesquisa. As CTCs do GBM (CTGs) têm características semelhantes aos progenitores cerebrais normais, como a capacidade de autorrenovação, proliferação em longo prazo, e a formação de neuroesferas. No entanto, poucos estudos descrevem a sua capacidade para múltiplas células do sistema nervoso (neurônios, astrócitos e oligodendrócitos).⁶

Os sinais moleculares que controlam a formação e manutenção do tumor são ligeiramente semelhantes aos progenitores normais, mas se diferenciam na frequência, nos marcadores aberrantes, e nos cromossomos. Já foi demonstrada CTG com marcador de superfície das células-tronco CD133; porém, outros marcadores de superfície estão surgindo, como A2B5, CD15, e CD171, por exemplo. Há evidências de que nem todas as CTGs apresentam o marcador clássico CD133, mas os perfis genotípicos do tumor cerebral diferem entre os pacientes, e os marcadores de superfície também podem variar. Além disso, o processo de inflamação durante o curso da doença é múltiplo, e a CTG desempenha um papel fundamental na manutenção e promoção dos microambientes e nichos.⁶

Microambiente e nichos das células-tronco glioma

Nicho vascular

As CTGs se encontram em locais anatômico-funcionais específicos com contato direto entre tipos celulares específicos e matriz extracelular, assim como com citocinas e fatores importantes para renovação e proliferação. Curiosamente, células-tronco neurais saudáveis, assim como as CTGs, também são reguladas por adesão e pelo nicho vascular. Além disso, promovem a angiogênese por meio de fatores de crescimento pró-angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV), migração endotelial e formação de tubos. Os tumores com CD133 + têm mais necrose, hemorragias e são altamente vascularizados quando comparados aos tumores com CD133 -.^{8,9}

Do mesmo modo, a complexidade entre as CTGs e as células endoteliais está longe de ser trivial. Estudos recentes mostraram que 20–90% das células endoteliais, dentro do tumor, apresentam as mesmas mutações presentes em GBMs, como o receptor do fator de crescimento epidérmico (RFCE) e a alteração no cromossomo 7.⁹

Além disso, foi demonstrado que as CTGs provocam uma diferenciação nos pericitos, mantendo, assim, a função do vaso e o desenvolvimento do tumor. Elas também expressam vários marcadores biológicos de pericitos, como a actina alfa do músculo liso, NG2, CD248 e CD146, e também são recrutadoras de células endoteliais via SDF-1/CXCR4. De modo geral, vemos a integração das CTGs com o nicho vascular em uma via de mão-dupla.^{8,9}

Sinalização de hipóxia

Os gliomas promovem um recrutamento de vasos, mediado por tumor, e, também, a neovascularização. No entanto, esses vasos são desorganizados, e a oferta de oxigênio é limitada em áreas específicas, com fluxo sanguíneo irregular e nível de tensão de oxigênio hipóxico, inferior a 5%. Essas regiões hipóxicas frequentemente expressam MGMT, e estão ligadas à resistência tumoral e ao mau prognóstico, uma vez que as células produzem mais CD133.^{10,11}

Na homeostase normal, as células hidroxilam o fator indutor de hipóxia (FIH), responsável por promover genes e ativar e modular respostas que envolvem sobrevivência celular, motilidade, metabolismo e angiogênese.^{10,11}

O FIH-1 α é expresso em vários tecidos; porém, o FIH-2 α não se restringe apenas às CTGs: é superexpressado por elas em gliomas, e é praticamente não expressado em células que não são CTGs. Além disso, sua superexpressão é crucial para a reprogramação do câncer, pelo aumento das células CD133 +, e pela regulação positiva de Oct4, Nanog e c-Myc mRNA.^{12,13}

Há também outros genes indutores de hipóxia, os quais são mais expressos quando em estado de hipóxia: Glut1, SerpinB9 e FCEV.^{12,13}

Sathornsumtee et al mostraram, em um estudo com 60 gliomas malignos recorrentes, que a anidrase carbônica 9 (AC9) e o FIH-2 α , expressados em nichos acidóticos e hipóxicos, estavam associados a um mau prognóstico e a uma taxa de sobrevivência inferior a 1 ano com o uso de bevacizumab.¹⁴

Via das células-tronco glioma

As proteínas Notch (1, 2, 3, 4) são essenciais durante o desenvolvimento do sistema nervoso central, pois promovem a renovação e contribuem para a sobrevivência das células-tronco, e também são cruciais para a plasticidade neuronal adulta. Patologicamente, a sinalização Notch modula a progressão do tumor cerebral e a diferenciação das células-tronco. Além disso, a cascata γ -secretase libera o domínio intracelular do Notch, e sua inibição é uma resposta aprimorada à temozolomida, diminuindo a radiorresistência, o crescimento celular, e também a diferenciação das CTGs.¹⁵⁻¹⁷

Sinalização de receptor de tirosina quinase

Os receptores de tirosina quinase (RTQs) são vias promovidas por várias citocinas e fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidérmico e o fator de crescimento de fibroblastos. Um desses caminhos é o PI3K/Akt /mTOR, encontrado em GBMs e superexpressado pelas CTGs. Essa via é ativada pelo FCEV, que aumenta o crescimento tumoral e também transduz vários marcadores de células-tronco, como o CD133, que cursam com o aumento da via da Akt e estão diretamente correlacionados com o grau do tumor.⁵

Hedgehog

A proteína sonic hedgehog é crucial para a formação embrionária e diferenciação das estruturas do cérebro dorsal; em adultos, ela regula as células-tronco neurais. No GBM, essa proteína está superativada, e relaciona-se com a expressão de genes e marcadores de células-tronco, como o CD133, promovendo o crescimento e contribuindo para a sobrevivência do tumor. Nos ratos, a inibição da via hedgehog leva à indução da apoptose, à diminuição da autorrenovação, e também a uma melhor resposta da temozolomida.^{18,19}

Fatores de transcrição das células-tronco glioma

Várias vias de sinalização conduzem sinais extracelulares aos fatores de regulação da transcrição das CTGs, como Oct4, Sox2, c-Myc e Olig2.

OS fatores Oct4 e Sox2 interagem na regulação e diferenciação de células-tronco embrionárias, assim como no aumento das CTGs, e na promoção da atividade tumorigênica.²⁰ A c-Myc leva à reprogramação celular no fibroblasto a fim de induzir uma pluripotência. Além disso, correlaciona-se com o grau do tumor, e é ainda mais expressada em CTGs, podendo atingir cerca de 50% das células CD133 positivas.²¹ O Olig2 é um fator de transcrição restrito ao sistema nervoso central, especificamente aos progenitores oligodendrócito e multipotente. É superexpressado em astrocitomas difusos, oligodendrogliomas e oligoastrocitomas.^{22,23} Em GBMs frescos de humanos, é positivo em 85% das células de gliomas que são positivas para Ki67, e em cerca de 98% de todas as CTGs CD133.

O Olig2 pode também controlar a proliferação de CTGs nas diferentes formas de adesão e ciclo celular.²³

Regulação epigenética das células-tronco glioma

Epigenética é a ocorrência de uma mudança hereditária de DNA, que regula a expressão gênica, sem modificação da sequência do DNA real. Recentemente, a metilação do DNA em gliomas de alto grau é uma das progressões mais significativas, com a identificação das mutações da enzima isocitrato desidrogenase 1 (IDH-1).⁵ As IDHs são múltiplas mutações que levam à modificação específica das enzimas do ciclo de Krebs. As enzimas mutantes de IDH geram um oncometabólito conhecido como d-2-hidroxiilglutarato (D-2-HG), em vez do α -cetoglutarato (α -CG), no ciclo do ácido cítrico. Essa proteína promove a gliomagenese por meio da ativação da translocação nuclear do FIH-1, o que leva a um aumento da proliferação celular e da angiogênese, como também à hipermetilação de histonas, que reestruturam o estado epigenético celular.²³

Além disso, o processo de metilação de histonas pode controlar a transcrição de proteínas. Ele abre a cromatina por meio da metilação da H3K4 para promover, assim, sua transcrição. O fechamento ocorre pela H3k27, interrompendo, desse modo, o processo. A histona metiltransferase é estimulada em CTGs hipóxicas, dando apoio à via de expressão da HIF-2 e à via tumorigênica.²⁴

Outro fator epigenético são os microRNAs (miRNAs), que são RNAs não codificadores regulatórios, com um papel essencial no desenvolvimento neural/processo biológico, e na tumorigênese do GBM, compostos, aproximadamente, por 22 nucleotídeos não codificantes com capacidade de expressão do gene regulador para baixo e inibição da tradução. Portanto, eles têm um papel essencial na pluripotência, na reprogramação, e na via das CTGs. O miARN-124, o miRNA-146a e o miRNA-34a contribuem para a gliomagenese, enquanto o miRNA-125b e o miARN-9 regulam o processo de resistência à quimioterapia e à radioterapia.^{25,26}

Processo de inflamação crônica

Como já discutido, o desenvolvimento do câncer cerebral é uma interação de múltiplos processos, desde alterações genéticas até inflamação. Várias mutações genéticas já foram relacionadas à tumorigênese cerebral, como: proteína tumoral p53 (PT-53), fosfatase homóloga à tensina (FEN), neurofibromatose tipo 1 (NF-1), RFCE, retinoblastoma (RB) e subunidade reguladora 1 da fosfoinositídeo-3-quinase (SR1FI3Q). A maioria desses genes codifica proteínas relacionadas à supressão tumoral. Suas mutações podem levar a alterações nos circuitos metabólicos, como: receptor tirosina quinases (RTC)/RAS (sarcoma de rato)/FI3Q, via p53, via RB, e via do IDH-1 ou IDH-2.²³

O desenvolvimento do câncer cerebral ocorre pela integração entre genética, distúrbios epigenéticos e inflamação. No câncer, a inflamação tem duas vias: a via intrínseca, que é a integração entre eventos genéticos que levam ao microambiente inflamatório crônico, e a via extrínseca, que leva à uma inflamação constante e facilita o desenvolvimento do câncer. Devido à sua inflamação persistente, citocinas imunossupressoras e inibitórias são secretadas, e as células que infiltram o

tumor secretam, por sua vez, mediadores inflamatórios em vez de uma resposta citotóxica. Por isso, as células da micrógliia e macrófagos associados a tumores (MATs) secretam citocinas e fatores de crescimento que criam um microambiente propício para o crescimento e invasão tumoral.²³

Além disso, as ciclo-oxigenases (COX), em particular a COX-2, têm um papel essencial na inflamação crônica devido ao aumento das prostaglandinas, da prostaciclina e do tromboxano. A COX-2 está aumentada nas lesões pré-malignas, e está superexpressada em tumores malignos, com a existência de correlação entre seus níveis e a agressividade tumoral.²⁴

Da mesma forma, modificações na proteína transdutora de sinais e ativadora de transcrição (TSAT) podem ser um ponto crucial na desregulamentação imune do câncer. As proteínas TSAT são fatores de transcrição citoplasmáticos que mediam a sinalização de tirosina quinase/fatores de crescimento e enzimas citoplasmáticas. A TSAT-3 está superativada em vários tumores cerebrais, e aumenta o processo inflamatório por meio da IL-6 e IL-10, induzindo também à imunossupressão, e diminuindo a atividade de neutrófilos e células exterminadoras naturais.^{23,24}

Do mesmo modo, as citocinas inflamatórias ativam e liberam NF- κ B livre, que se transloca para os genes do núcleo e transcreve genes que codificam proteínas antiapoptóticas e citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, moléculas de adesão, proteases e proteínas de reparo de DNA, como a MGMT.²⁴ A temozolomida e outras quimioterapias adicionam um grupo alquilo no DNA tumoral, a fim de parar/interromper o ciclo celular e provocar a morte tumoral. Por outro lado, a MGMT tem a função de reparar o DNA e remover os grupos alquilo, o que resulta em resistência à temozolomida.²³

Com isso, a inflamação crônica provoca o estresse oxidativo, com a liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que desregulam o reparo de pareamentos errados (RPE) do DNA, o reparo por excisão de base (REB), o reparo por excisão de nucleotídeos (REN), o ciclo celular e a recombinação homóloga (RH). Esse estresse oxidativo cria um círculo vicioso para a instabilidade genética e o silenciamento epigenético, chamado de instabilidade microssatélite (IMS).^{23,24}

Conclusão

Os tumores cerebrais são uma das lesões mais agressivas existentes, apesar de serem uma das lesões menos entendidas. As perspectivas futuras apontam para a interrupção do ciclo celular nas vias das células-tronco, para a diferenciação de fenótipos/genótipos e da hierarquia das células-tronco no tumor cerebral. Finalmente, a inflamação crônica pode ser uma ponte entre o distúrbio genético e epigenético, criando um microambiente tumoral complexo e, por conta disso, mais estudos se fazem necessários para que se possam oferecer formas melhores de tratamento aos nossos pacientes.

Declaração de conflito de interesses

Declaramos para os devidos fins que nós autores não recebemos pagamentos ou abonos de nenhuma instituição, não temos vínculos com nenhuma empresa que poderia ter relação com o trabalho desenvolvido, e não

detemos nenhuma patente que pode estar envolvida com a produção científica deste trabalho.

Referências

- 1 Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):987–996
- 2 Manoranjan B, Venugopal C, McFarlane N, et al. Medulloblastoma stem cells: modeling tumor heterogeneity. *Cancer Lett* 2013;338(01):23–31
- 3 Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathol* 2012;123(04):473–484
- 4 Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2012;123(04):465–472
- 5 Schonberg DL, Lubelski D, Miller TE, Rich JN. Brain tumor stem cells: Molecular characteristics and their impact on therapy. *Mol Aspects Med* 2014;39:82–101
- 6 Bao S, Wu Q, Sathornsumetee S, et al. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2006;66(16):7843–7848
- 7 Bao S, Wu Q, McLendon RE, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006;444(7120):756–760
- 8 Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004;432(7015):396–401
- 9 Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature* 2010;468(7325):824–828
- 10 Harris AL. Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;2(01):38–47
- 11 Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell* 2007;129(03):465–472
- 12 Li Z, Bao S, Wu Q, et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell* 2009;15(06):501–513
- 13 Li Z, Wang H, Eyler CE, Hjelmeland AB, Rich JN. Turning cancer stem cells inside out: an exploration of glioma stem cell signaling pathways. *J Biol Chem* 2009;284(25):16705–16709
- 14 Sathornsumetee S, Cao Y, Marcello JE, et al. Tumor angiogenic and hypoxic profiles predict radiographic response and survival in malignant astrocytoma patients treated with bevacizumab and irinotecan. *J Clin Oncol* 2008;26(02):271–278
- 15 Fan X, Khaki L, Zhu TS, et al. NOTCH pathway blockade depletes CD133-positive glioblastoma cells and inhibits growth of tumor neurospheres and xenografts. *Stem Cells* 2010;28(01):5–16
- 16 Wang J, Wakeman TP, Lathia JD, et al. Notch promotes radioresistance of glioma stem cells. *Stem Cells* 2010;28(01):17–28
- 17 Wang R, Chadalavada K, Wilshire J, et al. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature* 2010;468(7325):829–833
- 18 Cayuso J, Ulloa F, Cox B, Briscoe J, Martí E. The Sonic hedgehog pathway independently controls the patterning, proliferation and survival of neuroepithelial cells by regulating Gli activity. *Development* 2006;133(03):517–528
- 19 Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, Radovanovic I, Ruiz i Altaba A. HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. *Curr Biol* 2007;17(02):165–172
- 20 Ikushima H, Todo T, Ino Y, et al. Glioma-initiating cells retain their tumorigenicity through integration of the Sox axis and Oct4 protein. *J Biol Chem* 2011;286(48):41434–41441

- 21 Wang J, Wang H, Li Z, et al. c-Myc is required for maintenance of glioma cancer stem cells. *PLoS One* 2008;3(11):e3769
- 22 Ligon KL, Huillard E, Mehta S, et al. Olig2-regulated lineage-restricted pathway controls replication competence in neural stem cells and malignant glioma. *Neuron* 2007;53(04):503–517
- 23 Mostofa AG, Punganuru SR, Madala HR, Al-Obaide M, Srivenugopal KS. The Process and Regulatory Components of Inflammation in Brain Oncogenesis. *Biomolecules* 2017;7(02):E34
- 24 Gallo M, Ho J, Coutinho FJ, et al. A tumorigenic MLL-homeobox network in human glioblastoma stem cells. *Cancer Res* 2013;73(01):417–427
- 25 Zhang Y, Dutta A, Abounader R. The role of microRNAs in glioma initiation and progression. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2012;17:700–712
- 26 de la Iglesia N, Puram SV, Bonni A. STAT3 regulation of glioblastoma pathogenesis. *Curr Mol Med* 2009;9(05):580–590