

artigo de revisão

Fosforilação proteica: desregulação e oncogénese

“Protein phosphorylation: deregulation and oncogenesis”

Conflitos de Interesse

Todos os autores declaram que participaram no corrente trabalho e se responsabilizam por ele. Declaram, ainda, que não existem, da parte de qualquer um deles, conflitos de interesse nas afirmações proferidas no presente artigo.

Data de Submissão: 23 de maio de 2013

Data de Aceitação: 15 de setembro de 2013

Autores

Luís SANTOS-SOUSA¹, Luís KORRODI-GREGÓRIO¹,
Maria João FREITAS¹ e Margarida FARDILHA²

Instituições

¹Laboratório de Transdução de Sinais, Centro de Biologia Celular, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

²Laboratório de Transdução de Sinais, Centro de Biologia Celular, Departamento de Biologia, Secção Autónoma de Ciências da Saúde, Universidade de Aveiro, Aveiro Portugal

Filiação

Universidade de Aveiro

Financiamento

Este trabalho é financiado por fundos FEDER através do Programa Operacional Fatores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito do projeto “PTDC/QUI-BIQ/118492/2010” e pelo Centro de Biologia Celular.

Correspondência

Margarida Fardilha
Centro de Biologia Celular
Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal,
Tel.: 00351 91 8143947; Fax: 00351 234 37039;
E-mail: mfordilha@ua.pt

Resumo

A fosforilação reversível proteica é o principal mecanismo regulador das cascatas de sinalização celular em eucariotas sendo este catalisado por cinases e revertido por fosfatases.

A desregulação da fosforilação de proteínas integrantes das vias de sinalização (ex. PI3K, TGF β e apoptóticas) têm sido associadas ao desenvolvimento de diversos tipos de cancro (ex. carcinomas da mama e próstata, o melanoma e o retinoblastoma). O processo oncogénico é dependente de alterações na maquinaria de fosforilação que permitem à célula a manipulação das vias de sinalização resultando numa promoção da proliferação celular.

O intuito desta revisão é apresentar como alterações no mecanismo de fosforilação desempenham um papel fulcral no desenvolvimento do processo oncogénico e como pode este ser manipulado com intuítos terapêuticos.

Palavras chave: Fosforilação proteica, Cancro da Mama, Cancro da Próstata, Melanoma, Retinoblastoma

Abstract

Reversible protein phosphorylation is the major mechanisms regulating signal transduction cascades in eukaryotic cells, being catalyzed by kinases and reversed by phosphatases.

Deregulation of phosphorylation in a variety of proteins that modulate important signal transduction pathways – e.g. PI3K, TGF β and apoptotic – have been associated with the development of several cancers, such as prostate and breast carcinomas, melanoma and retinoblastoma. The oncogenic process appears to be highly dependent on a wide range of alterations in the phosphorylation machinery that ultimately promotes carcinogenesis.

Thusly, the purpose of this review is to present how alterations in phosphorylation play a pivotal role in the development of the oncogenic process in several cancers and how it can be manipulated from a therapeutic point-of-view.

KeyWords: Protein phosphorylation, Breast Cancer, Prostate Cancer, Melanoma, Retinoblastoma

Mecanismo de Fosforilação e Cancro

As células têm necessariamente de comunicar com o meio e entre si com vista à manutenção da homeostasia, sendo esta comunicação mediada por diversas vias de sinalização celular. Estas vias são complexas formas de processamento da informação que permitem a comunicação através da integração de sinais provenientes do meio interno ou externo. Um sinal é detetado por meio de um recetor e a transdução do sinal determina a produção de uma resposta que se pretende adequada. Todos os processos celulares são, invariavelmente, regulados por vias de

sinalização, incluindo aqueles que se apresentam como mais relevantes para a oncogénese tais como a apoptose, a diferenciação e divisão celular¹. Um dos mecanismos mais comuns nos eucariontes para regular as vias de transdução de sinal é a fosforilação reversível de proteínas que consiste na adição e remoção de grupos fosfato a proteínas-alvo alterando assim a sua localização subcelular, atividade ou período de semi-vida. A fosforilação apresenta-se como uma das modificações pós-traducionais mais comuns, estimando-se que 30-70% das proteínas celulares sofram regulação por este mecanismo². A fosforilação proteica é um processo reversível que envolve cinases, que adicionam um grupo fosfato, e fosfatases, que revertem o processo. Há ainda a registar a existência de proteínas reguladoras, que desempenham um papel fulcral na determinação da especificidade das fosfatases². Apesar de quimicamente simples, este mecanismo é essencial e serve de interruptor no controlo de quase todas as funções celulares. A sua desregulação encontra-se associada ao desenvolvimento de múltiplas patologias, *e.g.* cancro, diabetes e doenças neurodegenerativas³. Tal desregulação pode advir de diversas situações tais como a alteração do nível de expressão de cinases ou fosfatases, a alteração do estado de fosforilação de uma determinada fosfoproteína-alvo ou mutações que inibam ou aumentem a atividade catalítica de cinases ou fosfatases. De um modo geral, o aumento da atividade cinase encontra-se associado à proliferação celular enquanto o aumento da atividade fosfatase está relacionada com a supressão tumoral¹. O termo cancro define um conjunto heterogéneo de patologias que partilham o facto de apresentarem um crescimento celular descontrolado. Frequentemente, estas surgem por alterações genéticas em dois tipos de genes: proto-oncogenes e genes supressores tumorais (GST), que codificam proteínas essenciais em processos celulares como proliferação, diferenciação e apoptose¹. Entre células normais e cancerígenas a sinalização celular ocorre de forma idêntica. Contudo, nas células cancerígenas existe uma desregulação destas vias com aquisição de competências vantajosas tais como evasão à apoptose, angiogénese e replicação ilimitada⁴. O modo como a manipulação do mecanismo de fosforilação em diversos processos celulares se relaciona com a génese de vários cancros será abordado em maior detalhe em três dos cancros mais comuns em Portugal (mama, próstata e melanoma) e num caso que se destaca por ter como causas mutações num único gene (retinoblastoma).

Cancro da Mama

O cancro da mama é o que tem maior incidência em Portugal, sendo diagnosticados todos os anos 4500 novos casos⁵. Este apresenta além da mortalidade associada, um enorme impacto emocional para o doente e familiares e económico para a sociedade^{6,7}. Na procura das bases moleculares desta doença um conjunto complexo de alterações foi identificado. A presença de recetores de estrogénios (RE), fosfoproteínas intracelulares que regulam a transativação de genes, foi detetada em cerca de 60-80% de todos os cancros da mama⁸ e a sua atividade é modulada por fosforilação⁹. No tecido normal os RE também existem¹⁰, sendo que os estrogénios atuam como estímulo mitogénico¹¹. A proliferação celular mediada pelas hormonas esteroides ocorre por via das cinases dependentes de ciclinas (CDKs)¹². No cancro da mama,

a ativação do RE induz a acumulação de Ciclina D1, levando à ativação das Cdk's correspondentes, induzindo a fosforilação de alvos fulcrais para a passagem ao longo da fase G1¹². A transição torna-se assim apenas dependente da Ciclina D1. O recetor da Progesterona (RPg), por seu turno, quando fosforilado pode exercer um efeito pro-oncogénico¹³, sendo que a avaliação da existência destes recetores (RE e RPg) tem importantes implicações no prognóstico e na terapêutica da doença¹⁴. No entanto, os efeitos mitogénicos dos estrogénios parecem ser mediados, em grande parte, por fatores de crescimento (FCs) e seus recetores (RFCs)¹⁵. A sinalização via RE induz por via genómica a síntese de diversos FCs e RFCs. Os FCs mais comumente correlacionados com o desenvolvimento do cancro da mama são o *Epidermal Growth Factor* (EGF) e o *Insulin-like Growth Factor* (IGF) estando os fatores de crescimento da via do *Transforming Growth Factor* – TGF e TGF – associados à modulação do crescimento mediado pelos anteriores^{16,17}. Relativamente ao EGF, verificou-se que a sua expressão está presente na maioria dos cancros da mama, ainda que também seja passível de ser detetada no tecido mamário normal¹⁸. Verifica-se contudo um aumento nos níveis de EGF, mediado por estrogénios, acompanhado por um incremento na expressão de TGF α . Paralelamente, é patente um aumento nos recetores de EGF (EGFRs) e uma diminuição no número de RE e RPg. Tais alterações parecem acompanhar a diminuição da resposta terapêutica anti-hormonal, levando o cancro para um estágio de independência de estrogénios¹¹. No tecido normal crê-se que o EGF seja o principal ligando do EGFR, mas em tecido cancerígeno tal papel poderá ser desempenhado pelo TGF α , associado a um pior prognóstico por poder transativar processos de angiogénese e formação de colónias, associados à metastização^{17,19}. Outros fatores de crescimento podem contribuir para a evolução do cancro, nomeadamente o IGF-I²⁰. Por outro lado, o TGF β apresenta-se inicialmente como inibidor da proliferação²¹. A ligação ao EGFR ativa diversas vias de sinalização, entre as quais as vias da PKB (*Protein kinase B*), ERK (*Extracellular-signal-regulated kinase*) e STAT (*Signal transducer and activator of transcription*)^{22,23}. O estudo integrado, com recurso a ferramentas de proteómica e genómica, permitiu a identificação de diversos oncogenes e GST associados ao cancro da mama: alterações nos genes BRCA1 e BRCA2, associadas ao cancro da mama hereditário, bem como alterações nos genes ou nas proteínas ErbB-2, p53, pRB, ATM e em diversos componentes das vias de transdução de sinal Ras/Raf/MEK/ERK e PI3K/PKB/mTOR²⁴⁻²⁷. O oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) codifica uma fosfoglicoproteína transmembranar do tipo tirosina cinase da família do EGFR. A sua amplificação ou sobre-expressão é comumente detetada em carcinomas da mama, sendo associada a um aumento da malignidade²⁸. Como tal, verifica-se o distúrbio da via de sinalização dos FC por aumento da expressão do recetor de tirosina cinase. Outras proteínas associadas ao c-erbB-2, nomeadamente o *Growth factor recetor-bound protein-7*, encontram-se também sobre-expressas em casos de cancro da mama mais agressivos²⁹. Mutações no p53 são as alterações mais frequentes em cancro, incluindo no cancro da mama^{30,31}. Um dos efeitos mais devastadores da mutação do p53 é o facto de facilitar a introdução de novas mutações e aquisição de resistências³². Das mutações em GST mais relevantes podemos destacar as mutações no BRCA1³³. Um aspeto que merece particular realce é a

regulação da atividade da proteína codificada pelo BRCA1 por meio de fosforilação pela cinase ATM. Esta cinase serina/treonina é recrutada e ativada por danos no ADN, estando a sua ativação associada à função não só do BRCA1 mas também do próprio p53^{34,35}. Outro GST cuja expressão se encontra frequentemente reduzida em cancro da mama é o gene PTEN, que codifica uma fosfatase lipídica que inibe a via da PI3K/PKB/mTOR que apresenta um forte potencial carcinogénico³⁶. Alterações no c-Ras foram também identificadas no cancro da mama²⁴. O c-Ras pode ativar diversas vias de sinalização, contudo uma que merece particular destaque é a via Raf/MEK/ERK em os intervenientes são cinases que se ativam sucessivamente por fosforilação, podendo esta via ser ativada também por diversos RFCs tais como EGFR e c-ErbB-2³⁷. Esta via ativa a fosfoproteína fator de transcrição *Myc*, que é frequentemente encontrado mutado no cancro da mama³⁸. Um resumo das principais alterações da fosforilação verificadas em cancro da mama encontra-se na figura 1.

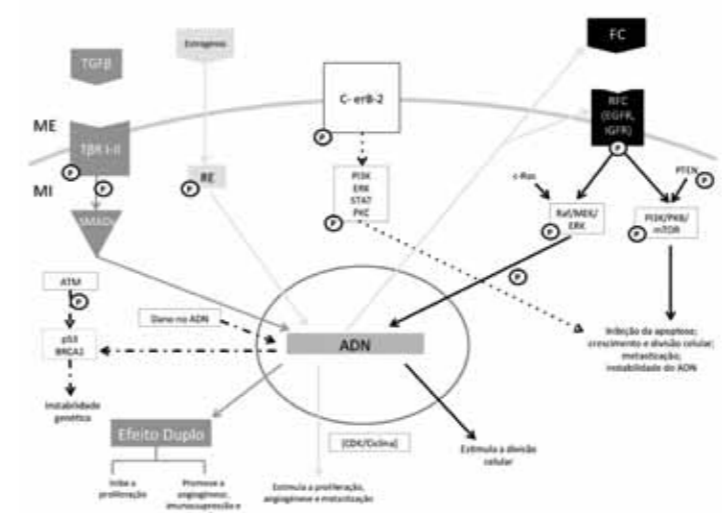


Figura 1: Alterações da fosforilação na desregulação de várias vias de sinalização em cancro da mama

Cancro da Próstata

Em Portugal o cancro da próstata é o mais frequente no homem, sendo diagnosticados cerca de 4000 novos casos por ano, correspondendo à terceira causa de morte por doença oncológica⁵. O crescimento da próstata é regulado por sinalização hormonal, parácrina e autócrina, tanto em situações fisiológicas como patológicas³⁹. Quanto à sinalização hormonal esta é mediada principalmente por androgénios e os seus recetores (RA). A sinalização parácrina e autócrina é dependente de FCs³⁹. Por norma, o cancro da próstata apresenta-se inicialmente como dependente de androgénios, evoluindo quase inevitavelmente para um estado de independência a estas hormonas^{40,41}. Tal como os REs, também os RAs são fosfoproteínas que regulam a transativação de genes envolvidos na mediação dos seus efeitos. Apesar de se encontrarem constitutivamente fosforilados, os RA sofrem uma fosforilação mais extensa aquando da ligação do ligando, o que aparenta

ter implicações funcionais⁴². Mutações no gene do RA foram já detetadas e promovem a progressão do tumor para um estado ativo independente de androgénios, parecendo ser pouco significativa tendo em conta a frequência de tal evento⁴³. A ativação do RA pode ainda decorrer da sobre-regulação da cinase PKA⁴⁴. A proliferação mediada por androgénios é maioritariamente independente de FC⁴⁵. No entanto, tal como verificado no caso do cancro da mama, também se verifica que os androgénios aumentam a produção e secreção de EGF, contudo a expressão de EGFR situa-se preferencialmente no compartimento neuroendócrino da próstata sendo aparentemente independente de androgénios. Também aqui se constata que o EGFR, que no tecido normal responde preferencialmente ao EGF, aparenta passar a ter o TGF α como principal ligando, ativando de um modo autócrino múltiplas vias de sinalização com impacto positivo na carcinogénese⁴⁶. Mais ainda, a sobre-expressão do recetor c-ErbB-2 está também associado ao cancro da próstata⁴⁷. Relativamente ao TGF β , este FC apresenta um papel aparentemente duplo na carcinogénese¹: inicialmente comporta-se como supressor tumoral, mas com o avançar da patologia passa a mediar processos associados ao aumento da agressividade do tumor, nomeadamente aumento da invasão, angiogénese e imunossupressão⁴⁸. Assim como acontece com muitos outros cancros, também no cancro da próstata são frequentemente encontradas mutações nos genes pRB e p53 (20-50%)^{49,50}. Tal como verificado no caso do cancro da mama, detetaram-se mutações nos genes *Ras* e *Myc*, sugerindo que a desregulação da via Ras/Raf/MEK/ERK também pode ocorrer e contribuir para o processo oncogénico⁵¹. O *Ras Kinase Inhibitor Protein* (RKIP) comporta-se como supressor da metastização, sendo que a sua inativação está associada à progressão tumoral⁵². A inativação do PTEN é também encontrada em muitos carcinomas da próstata, resultando desta implicações, não só na já referida via do PKB, mas também em vias de transdução mediada por adesão³⁶, regulando a ação do *Focal Adhesion Kinase*, importante regulador dessas vias⁵³. Tal pode explicar porque motivo o PTEN tende a aparecer mutado em cancros já metastáticos. O estado de fosforilação do PKB tem também fortes implicações prognósticas⁵⁴. Na figura 2 encontra-se um resumo das alterações da fosforilação no cancro da próstata.

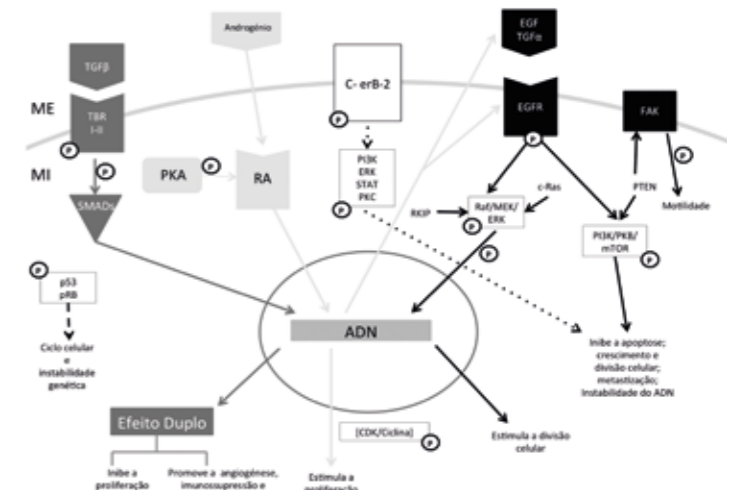


Figura 2: Alterações da fosforilação na desregulação de várias vias de sinalização em cancro da próstata

Melanoma

A incidência de melanoma cutâneo tem aumentado nas últimas décadas a nível mundial⁵⁵. Em Portugal, dados do Registo Oncológico Regional demonstram que a incidência de melanoma é de 6-8 casos por cada 100.000 habitantes⁵⁶. A transição de melanócitos saudáveis para tumores metastáticos ocorre devido a alterações de processos fisiológicos da célula, frequentemente por alterações na fosforilação⁵⁵.

PKB (ou AKT) é uma cinase que está frequentemente desregulada no melanoma. A via de sinalização PI3K/PKB inicia-se com a ativação de recetores cinase, integrinas ou outros estímulos que ativem a PI3K (*Phosphoinoside-3 kinase*). A ativação desta cinase leva à produção de PIP3 que, por sua vez, tem como função ancorar PKB à membrana plasmática onde é ativada por fosforilação pela PDK1 (*Pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 1*). A diversidade de funções da PKB está refletida na diversidade de substratos desta enzima: PKB está envolvida na apoptose, através de inibição de proteínas pró-apoptóticas (Bcl-2 e Bax) e ativação de proteínas anti-apoptóticas (XIAP); regulação do crescimento celular através do seu efeito na mTOR; e regulação do ciclo celular e proliferação através da inibição de proteínas como CDK, ciclinas e p53. Esta diversidade de funções faz com que uma desregulação da PKB, quer seja direta ou indiretamente, cause um desequilíbrio celular grave que culmina no desenvolvimento de células cancerígenas⁵⁷.

Dos casos de melanomas esporádicos, 43-67% apresentam níveis de atividade da PKB aumentados sugerindo que a atividade de fosforilação desta cinase desempenha um papel importante no desenvolvimento de melanomas. Também foi demonstrado que em melanoma a PTEN apresenta perda de função, principalmente numa fase mais avançada⁵⁸.

A PKC (*Protein kinase C*) desempenha um papel ambíguo no desenvolvimento do melanoma. PKC ϵ é um oncogene cuja capacidade oncogénica está associada com a capacidade de fosforilar e ativar a STAT3 e o ATF2. STAT3 é um fator de transcrição cuja ativação leva ao aumento da divisão celular enquanto a fosforilação do ATF2 previne a sua translocação para a mitocôndria inibindo a apoptose. No melanoma os níveis de PKC ϵ são elevados, associados a prognósticos reservados. Por outro lado, PKC β está associada à diferenciação de melanócitos, redução da invasão e aumento da apoptose, indicando uma função de supressão tumoral. Níveis de expressão de PKC β são reduzidos ou até indetetáveis em 90% das linhas celulares de melanoma reforçando a sua função como supressor tumoral^{59,60}.

Em suma, a desregulação da fosforilação de proteínas no melanoma despenha um papel fundamental na aquisição de capacidade oncogénica. Esta desregulação verifica-se em diversos níveis desde: 1) desregulação da atividade de fosforilação da PKC causando insensibilidade a estímulos apoptóticos e aumento da divisão celular; 2) aumento da atividade da via PI3K/PKB/mTOR.

Retinoblastoma

Retinoblastoma é o cancro ocular mais comum em crianças. Tipicamente ocorre em crianças com menos de 6 anos e tem uma incidência de 1 caso por cada 15.000-20.000 nascimentos⁶¹, cerca de 5 novos casos por ano⁶⁶. A pRB foi a primeira proteína a ser associada ao aparecimento do retinoblastoma. Esta proteína é um supressor tumoral responsável por um *checkpoint* durante a transição entre a fase G1 e S, através da repressão da

transcrição de vários genes, sendo a sua ação controlada pelo seu estado de fosforilação. No início da fase G1 a proteína encontra-se hipofosforilada, ligando-se ao fator de transcrição E2F, impedindo a sua migração para o núcleo e assim a transcrição de genes essenciais para transição G1/S. Quando a célula progride no ciclo celular (fase S) a fosforilação da pRB pelas CDKs e diminuição da ação de fosfatases como a PPP1 (*Phosphoprotein phosphatase 1*), determina a libertação do E2F. Quando a célula entra novamente em fase G1 do ciclo celular a PPP1 remove todos os grupos fosfatos da pRB e esta volta ao seu estado de hipofosforilada⁶². Na figura 3 está ilustrado o estado de fosforilação da pRB ao longo do ciclo celular. Perda de função da pRB para além de ligada ao aparecimento de retinoblastoma está associada ao aparecimento de cancro do pulmão e mama^{63,64}. Também foi provado que mutações na pRB que alterem os domínios de ligação a proteínas cinase e fosfatases (CDK e PPP1) levam a uma desregulação do ciclo celular e consequentemente a uma proliferação descontrolada⁶⁵.

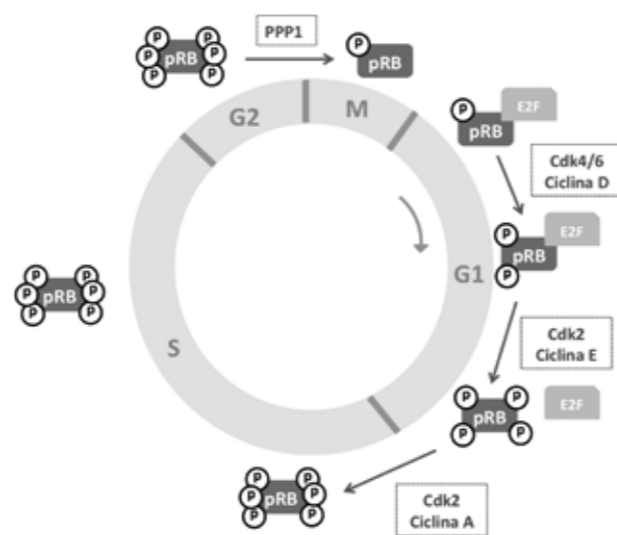


Figura 3: Regulação do ciclo celular pela pRB evidenciando o papel da fosforilação

Mecanismo de fosforilação como alvo para a terapêutica

Atualmente, cerca de um terço das substâncias a serem alvo de ensaio clínico atuam ao nível das cinases, frequentemente com o intuito de as inibir¹. No caso da terapêutica oncológica, a abordagem pelas vias de transdução de sinal tem vindo a ganhar relevo com a utilização já na prática clínica de diversos fármacos. As estratégias para abordar esta questão, focam-se essencialmente em quatro vias: oligonucleótidos *antisense*, anticorpos monoclonais, vacinas imunoterapêuticas e pequenas moléculas. No primeiro caso, procura-se inibir endogenamente a síntese da proteína. Anticorpos monoclonais bloqueiam proteínas que sejam facilmente acessíveis inibindo a sua função, enquanto as vacinas imunoterapêuticas visam promover a resposta imunitária ao cancro. A utilização de pequenas moléculas tem sido privilegiada por mais facilmente atingirem o alvo e apresentarem uma maior diversidade de efeitos. A ligação a centros ativos ou alostéricos pode, por exemplo, modular o nível de atividade, facilitar a

destruição do alvo ou alterar a sua localização subcelular¹.

No cancro da mama, a primeira abordagem terapêutica passa, pela terapia endócrina⁶⁶. Esta visa bloquear ou diminuir a sinalização hormonal, pela diminuição da produção das hormonas sexuais (por exemplo, utilizando inibidores da aromatase no cancro da mama⁶⁷), antagonização do ligando (o tamoxifeno antagoniza os estrogénios⁶⁸) ou sub-regulação da sinalização (modo de atuação do fulvestrant⁶⁹). Todas estas abordagens visam diminuir a ativação dos recetores hormonais, fosfoproteínas cuja atividade é determinada pelo estado de fosforilação. Todavia, após a resposta inicial desenvolve-se invariavelmente resistência a esta terapêutica. A resistência adquirida prende-se com o aumento da atividade das vias de fatores de crescimento e diminuição da expressão ou atividade de elementos da via do RE, enquanto que a resistência inata é determinada, principalmente, pela presença de c-erbB-2^{1,70}. Com o intuito de reverter esta resistência, várias estratégias têm vindo a ser postas em prática que visam inibir as vias de sinalização desencadeadas por FC, havendo já diversos exemplos introduzidos na prática clínica. O gefitinib inibe reversivelmente a auto-fosforilação do EGFR e, portanto, previne a sinalização⁷¹. O Lapatinib inibe o EGFR e c-erbB-2 por ligação reversível ao local de ligação ao ATP¹. O Trastuzumab, por seu turno, é um anticorpo que se liga ao domínio extracelular do c-erbB-2 e inibe a proliferação e sobrevivência em tumores c-erbB-2 positivos⁷². Inibidores do IGFR também se encontram em fase clínica de desenvolvimento¹.

Como verificado anteriormente, as vias de sinalização iniciadas pelos FC propagam-se por meio de diversas vias intracelulares, sendo das mais importantes as do Raf/MEK/ERK e do PI3K/PKB/mTOR. Assim, urge também inibir as vias destas cinases, encontrando-se disponíveis fármacos que atuam em vários pontos distintos destas vias. Por exemplo, é possível atacar a via do PI3K inibindo-se diretamente esta cinase (LY294002) ou inibindo o seu alvo utilizando neste o everolimus ou o temsirolimus^{70,73}. Apresentando-se o cancro como uma patologia multifatorial e heterogénea, torna-se por vezes mais adequado a utilização de terapias combinadas as quais compreendem a atuação concomitante em várias vias de sinalização ou em diversos pontos da mesma via.

Em teoria, desregulações no estado de fosforilação proteico podem ser atacados com a mesma eficácia quer por via das cinases quer pelas fosfatases que revertem o processo. Contudo, menos investigação foi até à data produzida no campo das fosfatases, para além do papel ainda não totalmente definido das proteínas reguladoras e o menor número de fosfatases contribuir para que a sua utilização como alvo terapêutico seja ainda diminuta. Face ao reduzido número de fosfatases, cada uma delas atua em múltiplos processos celulares e fisiológicos, pelo que a sua simples inibição não deverá apresentar-se como a abordagem mais adequada. Assim sendo, a identificação de proteínas com as quais interagem permitem identificar complexos proteicos mais específicos para um determinado processo, constituindo assim um alvo terapêutico preferencial. Aliás, as três substâncias aprovadas que atuam modulando os efeitos da PPP1, fazem-no através das suas subunidades reguladoras (PPP1 *Interacting Protein* - PIPs)³. Por exemplo a histona desacetilase (HDAC) é uma PIP e a disrupção do complexo PPP1-HDAC pela tricostatina A promove a associação da PPP1 com a PKB, levando à sua desfosforilação e, consequentemente, à inibição da oncogénese⁷⁴. Tendo em conta este mecanismo

de ação, esta tem sido testada no tratamento do cancro da próstata.

Podemos concluir que face à importância das alterações do processo de fosforilação no processo oncogénico é natural que tanto as cinases como as fosfatases e seus reguladores se apresentem como alvos terapêuticos preferenciais para o desenvolvimento de novas terapias para o cancro. Para uma maior eficácia é necessário uma melhor compreensão do papel das fosfatases e cinases nos sistemas biológicos, um conhecimento mais aprofundado da relação estrutura-função, avaliar o impacto de mutações ou alterações de expressão na resistência à terapêutica e identificar as proteínas com que cinases e fosfatases interagem e qual a relevância desta interação no sistema biológico. Além disso, a escolha de alvos específicos permite reduzir os efeitos secundários e a utilizações de combinações terapêuticas adequadas confere uma resposta mais abrangente ao cancro⁷⁵.

Conclusão

Alterações no processo de fosforilação estão patentes em múltiplos tipos de cancro. O aumento da expressão ou da atividade de recetores de FC (com atividade cinase) ou hormonais (fosfoproteínas que atuam como fatores de transcrição) determinam a ativação excessiva de vias de transdução de sinal que culminam na aquisição de um fenótipo oncogénico. Das vias de transdução de sinal mais amplamente alteradas destacam-se as vias do PI3K/PKB/mTOR, PKC e Raf/MEK/ERK, nas quais o mecanismo de fosforilação desempenha um papel central. Alterações no ciclo celular e na estabilidade genómica também são transversais a múltiplos cancros. Desta forma a terapêutica dirigida ao processo de fosforilação apresenta-se como uma alternativa viável, sendo que a identificação de alterações altamente específicas para o cancro é fulcral para a eficácia da mesma.

Referências

- Fardilha M, da Cruz e Silva OA and Conde M. O eSsencial em... Sinalização Celular. Aveiro, 2012
- Bollen M, Peti W, Ragusa MJ and Beullens M. The extended PP1 toolkit: designed to create specificity. Trends Biochem Sci 2010; 35(8): 450-458.
- Fardilha M, Esteves SL, Korrodi-Gregorio L, da Cruz e Silva OA and da Cruz e Silva FF. The physiological relevance of protein phosphatase 1 and its interacting proteins to health and disease. Curr Med Chem 2010; 17(33): 3996-4017.
- Hanahan D and Weinberg Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell 2011; 144(5): 646-674.
- pop.eu.com. <http://www.pop.eu.com/home.html> (15-01-2013, date last accessed).
- Foster TS, Miller JD, Boye ME, Blieden MB, Gidwani R and Russell MW. The economic burden of metastatic breast cancer: a systematic review of literature from developed countries. Cancer Treat Rev 2011; 37(6): 405-415.
- Sprung BR, Janotha BL and Steckel AJ. The lived experience of breast cancer patients and couple distress. J Am Acad Nurse Pract 2011; 23(11): 619-627.

- ⁸ McGuire WL, Chamness GC, Costlow ME and Richert NJ. Steroids and human breast cancer. *J Steroid Biochem* 1975; 6(5): 723-727.
- ⁹ Weigel NL and Moore NL. Steroid receptor phosphorylation: a key modulator of multiple receptor functions. *Mol Endocrinol* 2007; 21(10): 2311-2319.
- ¹⁰ Laron Z, Kauli R and Pertzalan A. Clinical evidence on the role of oestrogens in the development of the breasts. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B: Biology* 1989; 95: 13-22.
- ¹¹ Barker S and Vinson GP. Epidermal growth factor in breast cancer. *Int J Biochem* 1990; 22(9): 939-945.
- ¹² Doisneau-Sixou SF, Sergio CM, Carroll JS, Hui R, Musgrove EA and Sutherland RL. Estrogen and antiestrogen regulation of cell cycle progression in breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 179-186.
- ¹³ Hagan CR, Daniel AR, Dressing GE and Lange CA. Role of phosphorylation in progesterone receptor signaling and specificity. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 357(1-2): 43-49.
- ¹⁴ Nofech-Mozes S, Vella ET, Dhesy-Thind S, et al. Systematic review on hormone receptor testing in breast cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20(3): 214-263.
- ¹⁵ Driggers PH and Segars JH. Estrogen action and cytoplasmic signaling pathways. Part II: the role of growth factors and phosphorylation in estrogen signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13(10): 422-427.
- ¹⁶ Hall JM, Couse JF and Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem* 2001; 276(40): 36869-36872.
- ¹⁷ Leake R, Kerr D and Rinaldi F. Steroid hormones and growth factors in breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 595: 236-241.
- ¹⁸ Travers MT, Barrett-Lee PJ, Berger U, et al. Growth factor expression in normal, benign, and malignant breast tissue. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988; 296(6637): 1621-1624.
- ¹⁹ Soares R, Pereira MB, Silva C, et al. Expression of TGF-alpha and EGFR in Breast Cancer and its Relation to Angiogenesis. *Breast J* 2000; 6(3): 171-177.
- ²⁰ Lønning PE and Helle SI. IGF-1 and Breast Cancer. 2008
- ²¹ Buck MB and Knabbe C. TGF-beta signaling in breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 119-126.
- ²² Navolanic PM, Steelman LS and McCubrey JA. EGFR family signaling and its association with breast cancer development and resistance to chemotherapy (Review). *Int J Oncol* 2003; 22(2): 237-252.
- ²³ Quesnelle KM, Boehm AL and Grandis JR. STAT-mediated EGFR signaling in cancer. *Journal of Cellular Biochemistry* 2007; 102(2): 311-319.
- ²⁴ Mariani-Costantini R, Merlo G and Frati L. Genomic alterations in human breast cancer: a review. *Tumori* 1989; 75(4): 311-320.
- ²⁵ Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B and Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253(5015): 49-53.
- ²⁶ Rosen EM, Fan S, Pestell RG and Goldberg ID. BRCA1 gene in breast cancer. *J Cell Physiol* 2003; 196(1): 19-41.
- ²⁷ Laloo F and Evans DG. Familial breast cancer. *Clin Genet* 2012; 82(2): 105-114.
- ²⁸ Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R and Balsari A. HER2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncology* 2001; 61 Suppl 2: 67-72.
- ²⁹ Nadler Y, Gonzalez AM, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM and Kluger Y. Growth factor receptor-bound protein-7 (Grb7) as a prognostic marker and therapeutic target in breast cancer. *Ann Oncol* 2010; 21(3): 466-473.
- ³⁰ Callahan R, Gallahan D, Smith G, et al. Frequent mutations in breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 698: 21-30.
- ³¹ Eeles RA, Bartkova J, Lane DP and Bartek J. The role of TP53 in breast cancer development. *Cancer Surv* 1993; 18: 57-75.
- ³² Knappskog S and Lonning PE. P53 and its molecular basis to chemoresistance in breast cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16 Suppl 1: S23-30.
- ³³ Wu J, Lu LY and Yu X. The role of BRCA1 in DNA damage response. *Protein Cell* 2010; 1(2): 117-123.
- ³⁴ Sperka T, Wang J and Rudolph KL. DNA damage checkpoints in stem cells, ageing and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(9): 579-590.
- ³⁵ Clark SL, Rodriguez AM, Snyder RR, Hankins GDV and Boehning D. Structure-Function Of The Tumor Suppressor BRCA1. 2012
- ³⁶ Hollander MC, Blumenthal GM and Dennis PA. PTEN loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(4): 289-301.
- ³⁷ Haagenson KK and Wu GS. The role of MAP kinases and MAP kinase phosphatase-1 in resistance to breast cancer treatment. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29(1): 143-149.
- ³⁸ Chen Y and Olopade OI. MYC in breast tumor progression. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8(10): 1689-1698.
- ³⁹ McKeenan WL. Growth factor receptors and prostate cell growth. *Cancer Surv* 1991; 11: 165-175.
- ⁴⁰ Gioeli D. Signal transduction in prostate cancer progression. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108(4): 293-308.
- ⁴¹ Saraon P, Jarvi K and Diamandis EP. Molecular alterations during progression of prostate cancer to androgen independence. *Clin Chem* 2011; 57(10): 1366-1375.
- ⁴² Blok LJ, de Ruyter PE and Brinkmann AO. Androgen receptor phosphorylation. *Endocr Res* 1996; 22(3): 197-219.
- ⁴³ Koochekpour S. Androgen receptor signaling and mutations in prostate cancer. *Asian J Androl* 2010; 12(5): 639-657.
- ⁴⁴ Sadar MD, Hussain M and Bruchovsky N. Prostate cancer: molecular biology of early progression to androgen independence. *Endocr Relat Cancer* 1999; 6(4): 487-502.
- ⁴⁵ Balk SP and Knudsen KE. AR, the cell cycle, and prostate cancer. *Nucl Recept Signal* 2008; 6: e001.
- ⁴⁶ Scher HI, Sarkis A, Reuter V, et al. Changing pattern of expression of the epidermal growth factor receptor and transforming growth factor alpha in the progression of prostatic neoplasms. *Clinical Cancer Research* 1995; 1(5): 545-550.
- ⁴⁷ Neto AS, Tobias-Machado M, Wroclawski ML, Fonseca FL, Pompeo AC and Del Giglio A. Molecular oncogenesis of prostate adenocarcinoma: role of the human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2/neu). *Tumori* 2010; 96(5): 645-649.
- ⁴⁸ Blanchere M, Saunier E, Mestayer C, Broshuis M and Mowszowicz I. Alterations of expression and regulation of transforming growth factor beta in human cancer prostate cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 82(4-5): 297-304.
- ⁴⁹ Bookstein R. Tumor suppressor genes in prostatic oncogenesis. *J Cell Biochem Suppl* 1994; 19: 217-223.
- ⁵⁰ Algaba F, Trias I, Santinelli A and Montironi R. TP53 in urologic tumors. *Anal Quant Cytol Histol* 2003; 25(3): 123-130.
- ⁵¹ Whitaker HC and Neal DE. RAS pathways in prostate cancer - mediators of hormone resistance? *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(8): 834-839.
- ⁵² Keller ET, Fu Z, Yeung K and Brennan M. Raf kinase inhibitor protein: a prostate cancer metastasis suppressor gene. *Cancer Lett* 2004; 207(2): 131-137.
- ⁵³ Ittmann MM. Chromosome 10 alterations in prostate adenocarcinoma (review). *Oncol Rep* 1998; 5(6): 1329-1335.
- ⁵⁴ Uzoh CC, Perks CM, Bahl A, Holly JM, Sugiono M and Persad RA. PTEN-mediated pathways and their association with treatment-resistant prostate cancer. *BJU Int* 2009; 104(4): 556-561.
- ⁵⁵ Dhawan P, Singh AB, Ellis DL and Richmond A. Constitutive activation of Akt/protein kinase B in melanoma leads to up-regulation of nuclear factor-kappaB and tumor progression. *Cancer research* 2002; 62(24): 7335-7342.
- ⁵⁶ Registo oncológico 2010. IPO Porto 2012
- ⁵⁷ Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C and Gonzalez-Baron M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev* 2004; 30(2): 193-204.
- ⁵⁸ Wu H, Goel V and Haluska FG. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003; 22(20): 3113-3122.
- ⁵⁹ Denning MF. Specifying protein kinase C functions in melanoma. *Pigment cell & melanoma research* 2012; 25(4): 466-476.
- ⁶⁰ Oka M and Kikkawa U. Protein kinase C in melanoma. *Cancer metastasis reviews* 2005; 24(2): 287-300.
- ⁶¹ Heck JE, Lombardi CA, Meyers TJ, Cockburn M, Wilhelm M and Ritz B. Perinatal characteristics and retinoblastoma. *Cancer causes & control: CCC* 2012; 23(9): 1567-1575.
- ⁶² Tamrakar S, Rubin E and Ludlow JW. Role of pRB dephosphorylation in cell cycle regulation. *Front Biosci* 2000; 5: D121-137.
- ⁶³ Imai MA, Oda Y, Oda M, Nakanishi I and Kawahara E. Overexpression of E2F1 associated with LOH at RB locus and hyperphosphorylation of RB in non-small cell lung carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130(6): 320-326.
- ⁶⁴ Lee EY, To H, Shew JY, Bookstein R, Scully P and Lee WH. Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. *Science* 1988; 241(4862): 218-221.
- ⁶⁵ Henley SA, Francis SM, Demone J, Ainsworth P and Dick FA. A cancer derived mutation in the retinoblastoma gene with a distinct defect for LXCXE dependent interactions. *Cancer cell international* 2010; 10: 8.
- ⁶⁶ Rao RD and Cobleigh MA. Adjuvant endocrine therapy for breast cancer. *Oncology (Williston Park)* 2012; 26(6): 541-547, 550, 552.
- ⁶⁷ Hadfield KD and Newman WG. Pharmacogenetics of aromatase inhibitors. *Pharmacogenomics* 2012; 13(6): 699-707.
- ⁶⁸ Jordan VC. Antiestrogenic and antitumor properties of tamoxifen in laboratory animals. *Cancer treatment reports* 1976; 60(10): 1409-1419.
- ⁶⁹ Krell J, Januszewski A, Yan K and Palmieri C. Role of fulvestrant in the management of postmenopausal breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11(11): 1641-1652.
- ⁷⁰ Fedele P, Calvani N, Marino A, et al. Targeted agents to reverse resistance to endocrine therapy in metastatic breast cancer: where are we now and where are we going? *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 84(2): 243-251.
- ⁷¹ Gui T and Shen K. The epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol* 2012; 36(5): 490-496.
- ⁷² Brollo J, Curigliano G, Disalvatore D, et al. Adjuvant trastuzumab in elderly with HER-2 positive breast cancer: a systematic review of randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev* 2013; 39(1): 44-50.
- ⁷³ Baselga J, Campone M, Piccart M, et al. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012; 366(6): 520-529.
- ⁷⁴ Sonnemann J, Gange J, Kumar KS, Muller C, Bader P and Beck JF. Histone deacetylase inhibitors interact synergistically with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) to induce apoptosis in carcinoma cell lines. *Invest New Drugs* 2005; 23(2): 99-109.
- ⁷⁵ Levitzki A and Klein S. Signal transduction therapy of cancer. *Mol Aspects Med* 2010; 31(4): 287-329.