

# Perspectivas no Tratamento do Câncer do Colo do Útero: Explorando o Bloqueio da Sinalização Celular

## *Perspectives in the Treatment of Cervical Cancer: Exploiting Cell Signaling Blockage*

## *Perspectivas en el Tratamiento del Cáncer del Cuello del Útero: Explorando el Bloqueo de la Señalización Celular*

Angélica Nogueira-Rodrigues<sup>1</sup>; Andréia Cristina de Melo<sup>2</sup>

### INTRODUÇÃO

Com estratégias insuficientes de prevenção primária e secundária, o câncer do colo do útero continua sendo a segunda causa de câncer na mulher, frequentemente diagnosticado em estágios avançados e responsável por altas taxas de morbimortalidade. Na abordagem da doença avançada, é provável que o melhor equilíbrio entre eficácia e toxicidade no tratamento com quimioterapia e radioterapia já tenha sido atingido com as tecnologias hoje disponíveis e novas estratégias terapêuticas precisam ser identificadas. O objetivo deste Artigo de Opinião é explorar sua biologia molecular em busca de alterações moleculares que influenciem sua fisiopatologia e comportamento clínico e que possam constituir alvos terapêuticos, além de revisar os dados preliminares de tratamento alvo específico em câncer do colo do útero.

Apesar dos significativos esforços na prevenção, o câncer do colo do útero continua sendo a segunda causa de câncer em mulheres no mundo. No contexto atual de incorporação da vacina profilática anti-HPV, é necessária a conscientização de que, pelos altos custos vigentes, o acesso à vacina tem ido na contramão das áreas de maior necessidade, fato que, somado à inexistência de efeito terapêutico sobre as infecções instaladas, tem levado a projeções de que não haverá redução na incidência nas neoplasias HPV relacionadas antes de 2040<sup>1</sup>; especificamente em relação ao câncer do colo do útero,

há projeções de aumento das atuais 300.000 mortes ano para 400.000 no ano de 2030<sup>1</sup>, não podendo ser arrefecidos os esforços de rastreamento e desenvolvimento de novos tratamentos, sob risco de agravamento do cenário atual<sup>1</sup>. Dos casos novos, 85% ocorrem nos países em desenvolvimento e cerca de 80% são diagnosticados em estágios avançados<sup>2</sup>, cenário com altas taxas de mortalidade quando se empregam as terapias atualmente disponíveis. Pacientes com estágio III apresentam sobrevida global em cinco anos inferior a 40%, sendo menor que 15 e 5% nos estágios IVA e IVB, respectivamente<sup>3</sup>. Na última década, os avanços terapêuticos alcançados no tratamento da doença metastática<sup>4</sup> e da doença localmente avançada<sup>5</sup> exploraram combinações de drogas citotóxicas, com pequeno ganho de sobrevida, às custas de significativo acréscimo de toxicidade.

Na análise desse cenário, duas questões principais emergem: do ponto de vista do pesquisador, o melhor equilíbrio entre eficácia e segurança com a combinação de citotóxicos atualmente disponíveis já foi atingido no câncer do colo do útero? De uma perspectiva biológica, é possível transformar o câncer do colo do útero em uma doença controlável como resultado da compreensão da sua biologia? Apostamos em uma resposta afirmativa para ambas as perguntas.

Com agente desencadeador bem definido e progressão neoplásica extensivamente estudada, a carcinogênese induzida pelo *Papilomavirus humano* (HPV) oferece

<sup>1</sup> Médica Oncologista. Mestre em Saúde da Mulher pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Doutoranda em Oncologia Clínica pelo Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Oncologista da Pesquisa Clínica do INCA e CACON Centro-Oeste de Minas Gerais. E-mail: angelica.onco@uol.com.br.

<sup>2</sup> Médica Oncologista. Mestre em Oncologia pelo INCA. Doutoranda em Oncologia Clínica pelo INCA. Oncologista da Pesquisa Clínica do INCA e Oncologistas Associados. E-mail: melo.andreia@uol.com.br.

Endereço para correspondência: Angélica Nogueira Rodrigues. Rua do Equador, 831 - Santo Cristo. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. CEP: 20220-410

oportunidade única para exploração de estratégias terapêuticas. Desde 1992, a Organização Mundial da Saúde considera que a persistência do vírus HPV em altas cargas virais representa o principal fator de risco para o desenvolvimento da doença. Pesquisas que utilizam método de hibridização têm demonstrado que mais de 99% dos casos podem ser atribuídos a algum tipo de HPV.

A carcinogênese induzida por HPV é um processo multifatorial envolvendo vários estágios sequenciais de expressão aberrante de genes celulares e virais<sup>6</sup>. Na infecção por HPV produtiva, o DNA viral permanece em estado episomal e há repressão da atividade das duas oncoproteínas mais importantes, E6 e E7<sup>7-8</sup>. Nas lesões pré-neoplásicas e no câncer, o DNA viral se integra ao genoma da célula humana<sup>9</sup>. Com a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro, o vírus reprograma o DNA das células infectadas e desencadeia a produção de oncoproteínas virais<sup>6</sup>. Os genes E6 e E7 são os únicos genes do HPV expressos de maneira consistente, tendo papel central no desencadeamento e manutenção do processo carcinogênico. As oncoproteínas produtos desses genes do HPV são capazes de interagir com vários fatores celulares, destacando-se a capacidade da proteína E6 de unir-se à proteína supressora de tumor p53 e degradá-la pela via de proteólise dependente de ubiquitina, enquanto E7 é capaz de inativar a forma supressora de proliferação celular da proteína do retinoblastoma (pRB). E6 e E7 são ainda capazes de interagir com proteínas precoces que controlam a proliferação celular, regular diretamente a atividade de receptores de fatores de crescimento, inibir apoptose e promover angiogênese<sup>10</sup>, alterando o ciclo e o programa de diferenciação destas células, promovendo o acúmulo de defeitos mitóticos que levam à instabilidade genômica, contribuindo para a manutenção do fenótipo maligno<sup>11</sup>.

Esse processo carcinogênico confere uma assinatura molecular que se destaca pela superexpressão do receptor de fator de crescimento epitelial (EGFR), o que se correlaciona a um pior prognóstico<sup>12-13</sup>, baixa frequência de superexpressão de HER2 e de mutação nos genes *EGFR*, *KRAS*, além de mutação em *PI3KCA*, ativação constitutiva das vias de sinalização de PI3K/AKT/mTOR<sup>14-16</sup> e ativação aberrante das vias MAPK, IGF-1/IGF-1R e HGF/c-Met<sup>17-19</sup>. Essas alterações celulares diretamente influenciadas pela infecção por HPV vêm sendo exploradas como alvos para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas nos carcinomas HPV dependentes<sup>17-21</sup>.

Dada a importância das oncoproteínas E6 e E7 na carcinogênese induzida pelo HPV, elas são alvos terapêuticos bastante atrativos. Conceitualmente, a estratégia mais eficiente seria interferir com a expressão de E6 e E7 ou identificar pequenas moléculas que interferissem na associação de E6 e E7 com alvos celulares críticos como p53 e pRB. Apesar de experimentos de

prova de conceito apoiarem a viabilidade destas estratégias, elas ainda se encontram em estágios muito iniciais de desenvolvimento.

Em fases um pouco mais avançadas, estão as estratégias que exploram como alvos enzimas que são reprogramadas por E6 e E7 e vias de sinalização que cooperam com estas oncoproteínas para acelerar a carcinogênese. Acredita-se que vias de transdução de sinal que são redundantes em células normais se tornam essenciais como consequência da expressão das oncoproteínas do HPV, e que o seu bloqueio possa culminar na perda da viabilidade celular. Nesta linha, o impacto terapêutico de uma grande gama de inibidores tirosino cinases e anticorpos monoclonais direcionados ao bloqueio dos alvos anteriormente citados vêm sendo estudados em tumores HPV dependentes e se encontram em estágios variados de desenvolvimento<sup>17-19</sup>.

EGFR é um receptor de membrana codificado pelo proto-oncogene *HER-1* que, quando dimerizado, ativa um domínio tirosino cinase regulador de funções celulares estratégicas, como crescimento e diferenciação. EGFR está expresso em tecidos normais e em um grande número de tumores, incluindo o câncer do colo do útero. A expressão de EGFR se correlaciona com a infecção pelo HPV. As oncoproteínas virais E5 e E6 do HPV ativam EGFR, reduzem degradação e aumentam sua reciclagem. A expressão de EGFR citoplasmático se intensifica com o aumento do grau da neoplasia intraepitelial cervical (NIC); no câncer do colo do útero, 80% das células expressam EGFR e 20% superexpressam. Mutações no *EGFR* são incomuns nas NICs de alto grau e no carcinoma do colo do útero, sugerindo a interferência das proteínas virais no EGFR no seu nível proteico, mas não no nível genômico<sup>21</sup>. Considerando os dados existentes de inibidores tirosino cinases em outras neoplasias, e os dados pré-clínicos e clínicos de sinergia do inibidor de EGFR erlotinibe quando combinado à quimioterapia e à radioterapia, o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) explorou, inicialmente no contexto de um estudo de fase I, a combinação de erlotinibe, quimioterapia e radioterapia em pacientes com diagnóstico de carcinoma do colo do útero localmente avançado. A segurança da combinação e a alta taxa de resposta completa apresentada pelas pacientes, 91,7%<sup>17</sup>, respaldaram o desenvolvimento do estudo de fase II. No fase II, confirmou-se a segurança da combinação. Resposta completa foi apresentada por 94,4% das pacientes e, na mediana de seguimento de 3 anos, as sobrevidas cumulativas global e livre de progressão, de 80% e 73,8%, foram superiores ao controle histórico de 68 e 60%, respectivamente<sup>22-23</sup>.

A via PI3K/AKT/mTOR está frequentemente desregulada em vários tipos de câncer, incluindo os tumores ginecológicos. As mutações em *PI3KCA* têm sido descritas em 17-33% dos tumores do colo do útero, 39%

dos de endométrio e 12% dos tumores de ovário. Estudos pré-clínicos e clínicos sugerem que mutações nesse gene predizem resposta aos inibidores de PI3K e mTOR<sup>20</sup>.

O everolimo, um derivado da rapamicina de administração oral, inibe o alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), uma proteína cinase da via PI3K/AKT, envolvida na regulação do crescimento, proliferação e sobrevivência celular. A alta atividade aberrante dos complexos mTOR parece ser a causa subjacente da carcinogênese no câncer do colo de útero e sua inibição representa uma estratégia de tratamento promissora para os tumores ginecológicos. A via PI3K/AKT é constitutivamente ativada na neoplasia do colo do útero, conforme demonstrado em amostras de tumores do colo do útero, onde se observou fosforilação da AKT por imuno-histoquímica<sup>13</sup>. Os tumores que apresentam a via PI3K-AKT ativada parecem ser hipersensíveis aos inibidores do mTOR.

Pelo menos 95% dos tumores de células escamosas do colo do útero são positivos para o HPV. Já foi demonstrado em estudos *in vitro* que inibidores da cinase mTOR bloqueiam a fosforilação da proteína 4E-BP1 e reduzem significativamente o nível da proteína E7. O efeito geral é um acúmulo de células na fase G1 do ciclo celular e consequente indução de apoptose. Esse efeito sugere que inibidores da mTOR poderiam inativar a oncoproteína E7 e, possivelmente, inibir a carcinogênese e a proliferação das células tumorais<sup>24</sup>.

Além disso, modelos pré-clínicos sugeriram que os inibidores do mTOR podem sensibilizar células tumorais e a vasculatura tumoral ao efeito da cisplatina e da radioterapia, componentes essenciais do tratamento dos tumores do colo do útero. Sabe-se que a radiação ativa a via PI3K/AKT e que sua inibição sensibiliza a vasculatura do tumor à radioterapia. A irradiação ativa a sinalização do mTOR no endotélio vascular e inibidores da mTOR aumentam a apoptose de células endoteliais em resposta à radiação. As células endoteliais parecem ser as mais sensíveis à combinação da inibição do mTOR com radioterapia. Isso sugere que os inibidores do mTOR apresentam maior eficácia como antiangiogênicos, quando combinados com radiação. Além disso, a inibição da mTOR intensifica a apoptose induzida por cisplatina, proporcionando justificativa molecular para o uso da combinação dos inibidores de mTOR e agentes que causam dano em tumores sólidos<sup>25</sup>. Como sensibilizador à radiação e cisplatina *in vitro*, esses inibidores podem intensificar a atividade dessa combinação em pacientes com câncer do colo do útero tratadas com fins curativos. Diante dessas evidências, o INCA desenvolve um estudo de fase I cujo objetivo é avaliar o acréscimo de everolimo, um inibidor oral da mTOR, à associação de cisplatina e radioterapia pélvica, no câncer do colo do útero localmente avançado.

Como acontece em vários tumores sólidos, a angiogênese também é um fator crucial na carcinogênese do câncer do colo do útero e sua progressão, tornando-se alvo terapêutico potencial. A infecção pelo HPV e a hipóxia (pelo aumento da expressão de HIF-1 $\alpha$  - *hypoxia-inducible factor-1 alpha*) estão relacionados aos níveis aumentados de VEGF (*vascular endothelial growth factor*), alvo comum na terapia antiangiogênica. Muitos autores têm associado a expressão do VEGF no câncer do colo do útero com um pior prognóstico<sup>19</sup>.

O bevacizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado contra VEGF, foi avaliado em um estudo de fase II recentemente publicado<sup>19</sup>. O uso do bevacizumabe como agente único em pacientes com câncer do colo do útero persistente ou recorrente, em segunda ou terceira linha, foi bem tolerado e com uma mediana de sobrevivência livre de progressão de 3,4 meses (IC 95% 2,53 – 4,53 meses) e sobrevivência global de 7,29 meses (IC 95% 6,11 – 10,41 meses), resultados melhores quando comparados aos controles históricos<sup>19</sup>.

O pazopanibe, um agente antiangiogênico oral, que tem como alvos o VEGFR (o receptor para o VEGF), o PDGFR (*platelet-derived growth factor receptor*) e c-Kit também foi testado em um estudo de fase II<sup>18</sup> e também teve um perfil de toxicidade favorável e um ganho em sobrevivência livre de progressão.

## CONCLUSÃO

É provável que o melhor quociente entre eficácia e tolerabilidade do binômio quimioterapia/radioterapia já tenha sido atingido com as tecnologias hoje disponíveis, havendo necessidade de exploração de novas combinações, com efeitos terapêuticos aditivos e menor sobreposição de efeitos adversos. A exploração de alvos celulares influenciados por oncoproteínas virais tem um sólido racional e parece ser uma promissora janela para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas nesse grupo de tumores com assinatura molecular HPV dependente.

## CONTRIBUIÇÕES

Ambas autoras contribuíram na concepção do projeto, seleção e revisão da literatura e redação final do artigo.

**Declaração de Conflito de Interesses: Nada a Declarar.**

## REFERÊNCIAS

1. Hellner K, Münger K. Human papillomaviruses as therapeutic targets in human cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(13):1785-94.
2. Quinn MA, Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Creasman WT, et al. Carcinoma of the cervix

- uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;95 Suppl 1:S43-103.
3. DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology.* 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. 3125 p.
  4. Long HJ 3rd, Bundy BN, Grendys EC Jr, Benda JA, McMeekin DS, Sorosky J, et al. Randomized phase III trial of cisplatin with or without topotecan in carcinoma of the uterine cervix: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol.* 2005;23(21):4626-33.
  5. Dueñas-González A, Zarbá JJ, Patel F, Alcedo JC, Beslija S, Casanova L, et al. Phase III, open-label, randomized study comparing concurrent gemcitabine plus cisplatin and radiation followed by adjuvant gemcitabine and cisplatin versus concurrent cisplatin and radiation in patients with stage IIB to IVA carcinoma of the cervix. *J Clin Oncol.* 2011;29(13):1678-85.
  6. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S7-15.
  7. McLaughlin-Drubin ME, Münger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein. *Virology.* 2009;384(2):335-44.
  8. Boccardo E, Villa LL. Vírus e câncer. In: Ferreira CG, Rocha JCC, organizadores. *Oncologia molecular.* 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2010. p. 177-89.
  9. Chen W, Li F, Mead L, White H, Walker J, Ingram DA, et al. Human papillomavirus causes an angiogenic switch in keratinocytes which is sufficient to alter endothelial cell behavior. *Virology.* 2007;367(1):168-74.
  10. Gaffney DK, Haslam D, Tsodikov A, Hammond E, Seaman J, Holden J, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and vascular endothelial growth factor (VEGF) negatively affect overall survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;56(4):922-8.
  11. Meira DD, Almeida VH, Mororó JS, Nóbrega I, Bardella L, Silva RL, et al. Combination of cetuximab with chemoradiation, trastuzumab or MAPK inhibitors: mechanisms of sensitisation of cervical cancer cells. *Br J Cancer.* 2009;101(5):782-91.
  12. Brown RE, Zhang PL, Lun M, Zhu S, Pellitteri PK, Riefkohl W, et al. Morphoproteomic and pharmacoproteomic rationale for mTOR effectors as therapeutic targets in head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Clin Lab Sci.* 2006;36(3):273-82.
  13. Bertelsen BI, Steine SJ, Sandvei R, Molven A, Laerum OD. Molecular analysis of the PI3K-AKT pathway in uterine cervical neoplasia: frequent PIK3CA amplification and AKT phosphorylation. *Int J Cancer.* 2006;118(8):1877-83.
  14. Serrano ML, Sánchez-Gómez M, Bravo MM, Yakar S, LeRoith D. Differential expression of IGF-I and insulin receptor isoforms in HPV positive and negative human cervical cancer cell lines. *Horm Metab Res.* 2008;40(10):661-7.
  15. DiPaolo JA, Woodworth CD, Popescu NC, Notario V, Doniger J. Induction of human cervical squamous cell carcinoma by sequential transfection with human papillomavirus 16 DNA and viral Harvey ras. *Oncogene.* 1989;4(4):395-9.
  16. Dürst M, Gallahan D, Jay G, Rhim JS. Glucocorticoid-enhanced neoplastic transformation of human keratinocytes by human papillomavirus type 16 and an activated ras oncogene. *Virology.* 1989;173(2):767-71.
  17. Nogueira-Rodrigues A, Carmo CC, Viegas C, Erlich F, Camisão C, Fontão K, et al. Phase I trial of erlotinib combined with cisplatin and radiotherapy for patients with locally advanced cervical squamous cell cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(19):6324-9.
  18. Monk BJ, Sill MW, Burger RA, Gray HJ, Buekers TE, Roman LD. Phase II trial of bevacizumab in the treatment of persistent or recurrent squamous cell carcinoma of the cervix: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2009;27(7):1069-74.
  19. Monk BJ, Mas Lopez L, Zarba JJ, Oaknin A, Tarpin C, Termrungruangert W, et al. Phase II, open-label study of pazopanib or lapatinib monotherapy compared with pazopanib plus lapatinib combination therapy in patients with advanced and recurrent cervical cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(22):3562-9.
  20. Janku F, Wheler JJ, Westin SN, Moulder SL, Naing A, Tsimberidou AM, et al. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in patients with breast and gynecologic malignancies harboring PIK3CA mutations. *J Clin Oncol.* 2012;30(8):777-82.
  21. Arias-Pulido H, Joste N, Chavez A, Muller CY, Dai D, Smith HO, et al. Absence of epidermal growth factor receptor mutations in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2008;18(4):749-54.
  22. Nogueira-Rodrigues A, Carmo CC, Morallez G, Erlich F, Grazziotin R, Mamede M, et al. Erlotinib added to cisplatin and definitive radiotherapy in untreated patients with locally advanced cervical cancer – a phase II trial and correlative molecular profiling. *Gynecologic Oncology.* 2012;125:S3-S167.
  23. Whitney CW, Sause W, Bundy BN, Malfetano JH, Hannigan EV, Fowler WC Jr, et al. Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1999;17(5):1339-48.
  24. Oh KJ, Kalinina A, Park NH, Bagchi S. Deregulation of eIF4E: 4E-BP1 in differentiated human papillomavirus-containing cells leads to high levels of expression of the E7 oncoprotein. *J Virol.* 2006;80(14):7079-88.
  25. Beuvink I, Boulay A, Fumagalli S, Zilbermann F, Ruetz S, O'Reilly T, et al. The mTOR inhibitor RAD001 sensitizes tumor cells to DNA-damaged induced apoptosis through inhibition of p21 translation. *Cell.* 2005;120(6):747-59.