

EPIGENÉTICA DO CÂNCER: DA PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA AO ESTADO DA ARTE

Maria Claudia dos Santos Luciano¹; Cristiana Libardi Miranda Furtado²; Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira³; Maria Francilene Souza Silva⁴; Claudia do Ó Pessoa^{5,6}

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia- RENORBIO
Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil
claudia_santos_luciano@hotmail.com

²Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos/Laboratório de Oncologia Experimental–
NPDM/LOE
Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil
clibardim@gmail.com

³Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos/Laboratório de Oncologia Experimental–
NPDM/LOE
Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil
cassiadefatima3006s@gmail.com

⁴Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia- RENORBIO
Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil
lenolysilva@hotmail.com

⁵Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz Ceará
⁶Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos/Laboratório de Oncologia Experimental–
NPDM/LOE
Universidade Federal do Ceará – UFC – Fortaleza/CE – Brasil
cpessoa@ufc.br

Resumo

O objetivo deste estudo é contextualizar, por meio de avaliação qualitativa e quantitativa, a progressão de estudos epigenéticos associados ao câncer. Os mecanismos epigenéticos são essenciais para o desenvolvimento normal de um organismo e a manutenção do padrão de expressão gênica tecido específica em mamíferos. Estudos sugerem que em alguns tipos de tumores a reprogramação epigenética das células parece ser o evento chave para iniciação e propagação do processo de carcinogênese. Deste modo, a ciência contemporânea traz como um dos seus objetivos o aumento da sobrevida do paciente, assim como a busca de novas moléculas para a produção de quimioterápicos no combate ao câncer, tendo os compostos epigenéticos como uma nova ferramenta promissora. A busca quantitativa indica um aumento crescente nos últimos dez anos, de trabalhos e produtos relacionando a epigenética e o câncer, esses achados foram evidenciados em todas as bases de dados avaliadas. Pubmed (Estudos pré-clínicos), ClinicalTrial.gov (Estudos clínicos), Espacenet (Prospecção tecnológica) e FDA (Medicamentos regulamentados). O estado da arte de uma determinada técnica ou assunto denota todos os campos e estudos explorados e descritos até o momento, nesse sentido os estudos epigenéticos de neoplasias, ou o uso de drogas epigenéticas em terapias oncológicas indicam uma forte tendência a

crescimento, uma vez que se trata de uma proposta de terapia bem recente, diretamente relacionada a uma doença de elevada complexidade como o câncer.

Palavras-chave: Epigenômica, Propriedade Intelectual, Neoplasia.

1. Câncer na Era Epigenética

O crescente aumento no número de casos de câncer é resultado de fatores como crescimento e envelhecimento populacional e a associação de hábitos de vida não saudáveis (JEMAL et al., 2011). Apesar das opções de tratamento terem melhorado nos últimos anos, em especial pelo desenvolvimento de terapias moleculares direcionadas, o prognóstico permanece ruim para muitos pacientes, devido a grande heterogeneidade genotípica e fenotípica dos diversos tipos de tumores (ASSENOV, BROCKS, GREHAUSER, 2018).

A ciência contemporânea traz como um dos focos o aumento da sobrevivência do paciente, assim como a busca de novas moléculas para a produção de quimioterápicos no combate ao câncer, tendo os compostos epigenéticos como uma nova ferramenta promissora, devido seu potencial reversível, que é uma das características marcantes da epigenética e, conseqüentemente, são passíveis de reprogramação.

O termo epigenética pode ser definido como qualquer alteração estável (a nível celular) na função gênica que não são explicadas por mudanças na sequência de DNA (WADDINGTON, 1942; HAIG, 2004). Os mecanismos epigenéticos em geral alteram a estrutura da cromatina, conferindo um programa diferencial de expressão gênica, dentre os quais se encontram as modificações de histonas, os RNAs não codificadores (ncRNA) e a metilação do DNA.

Na modificação de histonas ocorre a adição de grupos químicos às caudas dessas proteínas que formam o nucleossomo, que podem ser do tipo fosforilação, ubiquitinação e, principalmente, a metilação e acetilação, essas últimas, geralmente ocorrem próximas às regiões promotoras e enhancers (REIK, SANTOS, DEAN, 2003; WANG, SCHONES, ZHAO, 2009), sendo, por essa razão, os principais alvos dos compostos epigenéticos (Epidrogas).

Estudos sugerem que em alguns tipos de tumores a reprogramação epigenética das células parece ser o evento chave para iniciação e propagação do processo de carcinogênese (FEINBERG, OHLSSON, HENIKOFF, 2006), culminando em mutações, seguida de mutações genéticas, o que torna mais difícil a compreensão do processo de tumorigênese, e conseqüentemente, seu tratamento.

Os mecanismos epigenéticos são essenciais para o desenvolvimento normal de um organismo e a manutenção do padrão de expressão gênica tecido específica em mamíferos (SHARMA, KELLY e JONES, 2010). Alterações epigenéticas (epimutações) estão relacionadas a diversas doenças em humanos incluindo o câncer. No entanto, essas alterações, diferentemente das mutações genéticas, são potencialmente reversíveis e apresentam grande plasticidade, em que o epigenoma de uma célula pode ser reprogramado (SHARMA, KELLY e JONES, 2010). A reprogramação epigenética durante o desenvolvimento normal de um indivíduo ocorre durante a gametogênese e a embriogênese, com eventos de metilação e demetilação global do genoma dos gametas e do embrião.

Esses mecanismos controlam a expressão gênica (epigenótipo), juntamente com as alterações genéticas (genótipo) e podem conferir as células tumorais um fenótipo peculiar, com alta capacidade proliferativa autônoma e monoclonal, anti-apoptótica, altamente invasiva e com a possibilidade de metástase favorecida pela angiogênese tumoral (formação de vasos sanguíneos para o suprimento de nutrientes e oxigênio). Algumas dessas características são compartilhadas com as células embrionárias, tais como a rápida proliferação e invasão (ARIEL et al., 2000) e especialmente a capacidade de reprogramar o seu epigenoma de maneira aberrante (FEINBERG, OHLSSON, HENIKOFF, 2006).

A reprogramação aberrante do epigenoma parece ser uma característica das células tumorais, as quais podem desempenhar um importante papel na iniciação e progressão do tumor, levando a

uma expressão gênica alterada que pode desencadear o processo de neoplasia maligna (SHARMA, KELLY e JONES, 2010).

Apesar de vários esforços para compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de carcinogênese e no tratamento do câncer, a taxa de mortalidade por neoplasias ainda é muito alta (NHI, 2018). As terapias direcionadas e as imunoterapias tem ampliado as opções de tratamento disponíveis, tendo se destacado como importante estratégia terapêutica para os mais diversos tipos de câncer, e vem melhorando o prognóstico e a sobrevida dos pacientes.

Atualmente, os compostos epigenéticos (epidrogas) tem ganhado posição de destaque nos últimos anos na *drug discovery* para o tratamento do câncer. As epidrogas são compostos químicos que promovem a desorganização das modificações transcricionais do DNA e pós-transcricional nas proteínas histonas, atuando sobre as enzimas necessárias para a manutenção e estabelecimento desses mecanismos (RODRIGUEZ-PAREDES, ESTELLER, 2011). Dentre os primeiros compostos avaliados, os inibidores das enzimas DNA metiltransferases (iDNMTs) foram aprovados para o tratamento da síndrome mielodisplásica (SMD), os quais são análogos de citidinas, o azacitidina (Vidaza) e decitabina (5-aza- e 5-aza-2'-deoxicitidina, respectivamente) (QI et al., 2016).

Os inibidores de histona deacetilases (HDAC) são outra classe importante, e encontram-se entre os principais compostos aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para tratamento do câncer, os quais apresentam resultados promissores com alta seletividade e baixa toxicidade. Dentre eles o vorinostat e a romidepsina, são utilizados no tratamento do linfoma cutâneo de células T, e o panobinostat e belinostat no tratamento do mieloma múltiplo (QI et al., 2016). Dentre os compostos aprovados, três deles pertencem a classe dos hidoxamatos (Vorinostat, Panobinostat e Belinostat). O vorinostat (Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA), tem mostrado resultados promissores, principalmente quando usado como parte de uma terapia combinada (HOSHIDA et al., 2010). Hsu et al. (2014), mostraram que o tratamento de carcinoma hepatocelular (CHC) utilizando terapia combinada de vorinostat e sofrafenibe apresentaram inibição do crescimento tumoral, sugerindo que o uso combinado desses dois medicamentos podem apresentar uma estratégia promissora no combate ao câncer.

A epigenética se apresenta atualmente como um novo campo promissor ao desenvolvimento de novas terapias. Em se tratando de neoplasias, a complexidade molecular é um fator determinante para adoção de compostos dotados desse potencial epigenético como nova ferramenta a serem inseridas juntamente com os tratamentos convencionais utilizados.

2. PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DE “EPIDROGAS”

Os compostos com modulação epigenética trazem uma ampla margem de combinação de terapias. O presente tópico traz uma abordagem quantitativa e qualitativa das diversas abordagens dessa classe de tratamento aplicado à terapia oncológica.

O levantamento de trabalhos estão apresentados em três blocos, de acordo com as plataformas de busca **(1)** Prospecção científica, nos níveis farmacológicos experimental pré-clínico (PubMed) e Clínicos (ClinicalTrial.gov); **(2)** Prospecção Tecnológica (ESPACENET) e **(3)** Medicamentos aprovados e regulamentados pelo FDA (Food and Drug Administration) (Figura 1).

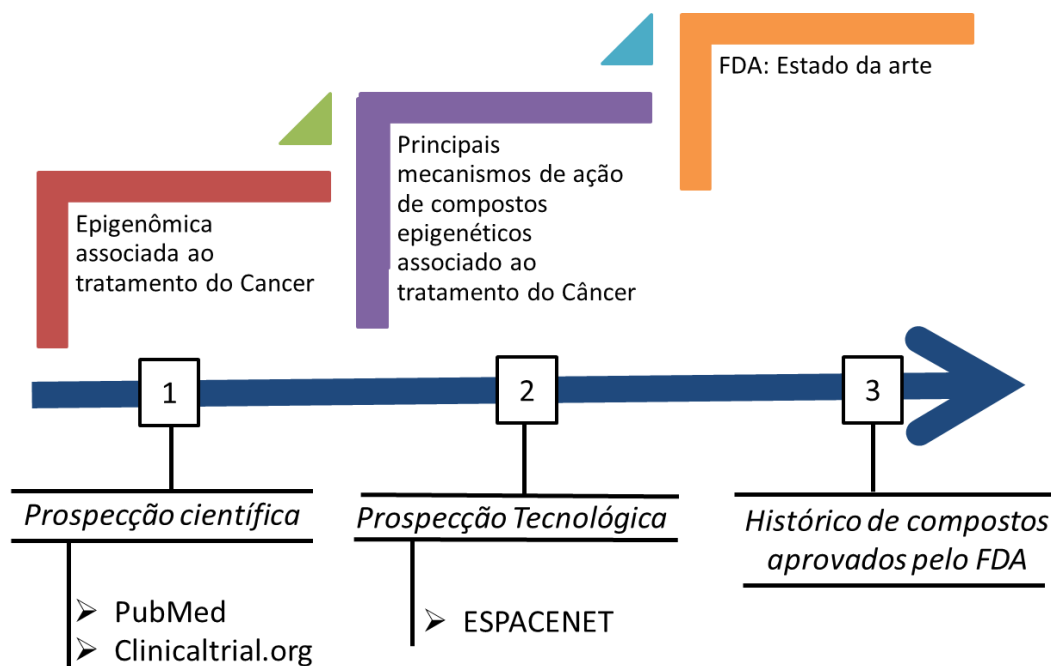


Figura 1 – Estratégia de busca prospectiva dos estudos e produtos relacionando câncer e epigenética.
Fonte: Autoria própria (2018).

Os estudos mostram um evidente crescimento no número de trabalhos contemplando epigenômica. Durante o período de 1890 a 2018, foram encontrados 84.572 trabalhos na base de dados PubMed, dos quais 40.400 (47,8%) foram publicados nos últimos 10 anos. Destes, 70% são de estudos relacionados exclusivamente a espécie humana. Dentre as diversas alterações epigenéticas presentes no câncer, e consequentemente, possíveis alvos epigenéticos, a metilação e a desacetilação foram utilizadas para levantamento de estudos, dos quais apresentam, nos últimos 10 anos, 1.790 e 27.971, trabalhos publicados, respectivamente (Figura 2).

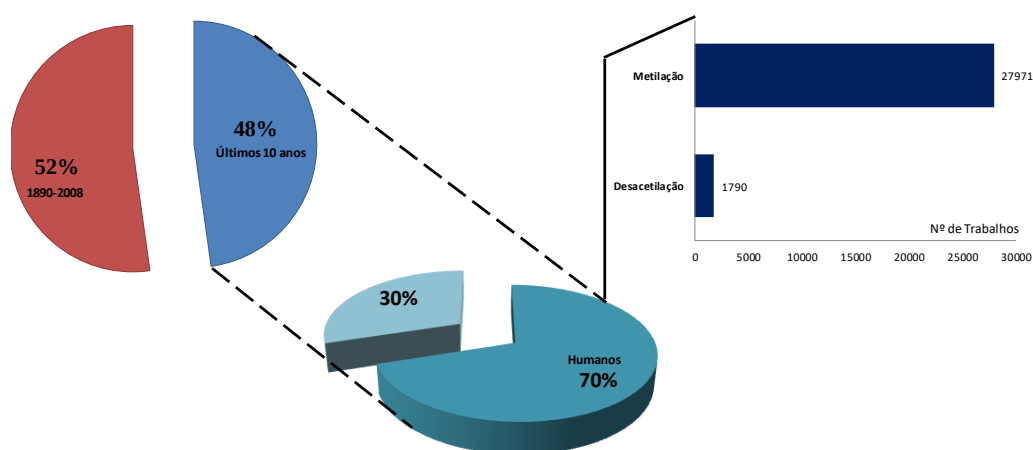


Figura 2 – Panorama de publicações extraídas do PubMed, contemplando o máximo do período de buscas (1890 a 2018), com estreitamento da estratégia para duas modificações epigenéticas, metilação e desacetilação. Pesquisa realizada em Março de 2018.
Fonte: Autoria própria (2018).

Sabe-se que a reprogramação epigenética faz parte de inúmeros processos fisiológicos regulares (SHARMA, KELLY e JONES, 2010). Dentre as inúmeras possibilidades de

reprogramações epigenéticas, as alterações na cromatina e consequente modulação de histonas são as mais frequentemente estudadas, na busca por novos compostos epigenéticos. Tendo sido observado na presente busca que, de fato, essas modificações são recorrentemente estudadas, representando as duas modificações (Metilação e desacetilação) um total de 29.761 estudos.

Visto o crescente número de estudos das mais diversas formas de mecanismos epigenéticos associados ao câncer espera-se um número igualmente crescente de depósito de patentes, visando à geração de produtos, nesse caso, de interesse biotecnológico, farmacológico e médico. Os dados de prospecção tecnológica apresentados indicam que houve, de fato, esse aumento crescente no número de depósitos de patentes nos últimos 10 anos. A busca, sem delimitação de tempo, encontrou um total de 179 depósitos, sendo 122 (69,3%) mais recentemente depositados, conforme demonstrado na Figura 3.

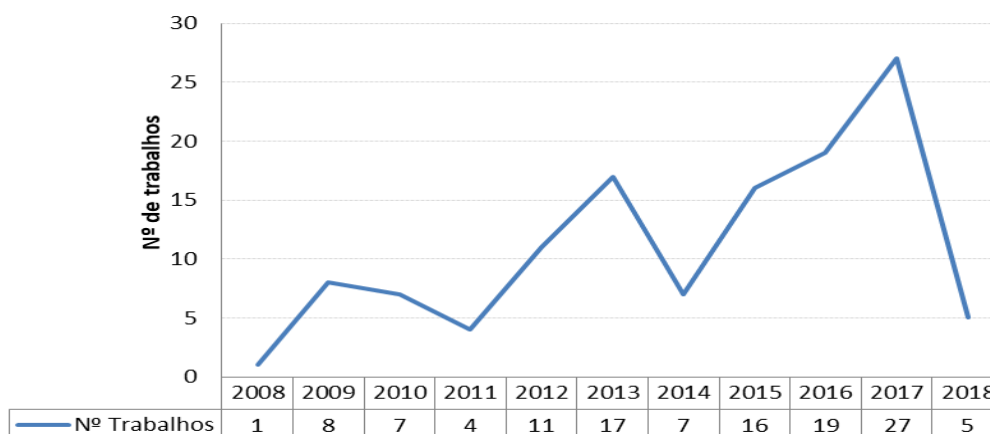


Figura 3 – Gráfico da progressão anual do número de depósitos de patentes contendo estudos epigenômicos relacionados ao câncer. Pesquisa realizada em Março de 2018.

Fonte: Autoria própria (2018).

Nesse contexto de estudos e depósitos crescentes podemos afirmar que o elevado número de patentes em um determinado território pode indicar, sobretudo, a importância daquele provável mercado, para o protótipo (Medicamento ou produto) que vem sendo estudado.

Quando se considera o depositante, avalia-se de certo modo, a capacidade inventiva e tecnológica daquele país, assim como o seu domínio sobre determinadas tecnologias. Uma vez que, embora haja regras territoriais sobre o que pode ou não ser objeto de depósito de uma patente, de uma maneira geral, para que algo seja patenteável deve: Ser produto da atividade inventiva, onde não resulte ou não seja dedutível, de maneira evidente, a partir do estado da técnica, para um especialista (VASCONCELOS, 2011).

Destaca-se dentre as invenções, o depósito de compostos derivados heterocíclicos promotores de regulação epigenética por inibição do reconhecimento mediado por bromodômio de regiões de acetil-lisina de histonas, aplicados ao tratamento de cancro e doenças neoplásicas (Patente EP3290407 (A1)) publicada no ano de 2018 (BENNETT et al., 2018).

Outra linha de pesquisa de destaque nessa área está representada na patente (US2018023147), também do ano de 2018. A invenção refere-se a métodos e biomarcadores epigenéticos para a detecção de câncer de bexiga em amostras biológicas (LIND et al., 2018).

A relação da epigenética com o câncer vai além das drogas epigenéticas, as patentes descritas evidenciam amplas possibilidades de estudos, todos de altíssima relevância para a medicina contemporânea, uma vez que amplia-se as possibilidades de tratamentos, diagnósticos e, até mesmo tratamento preventivo.

3. ESTUDOS CLÍNICOS E USO TERAPÊUTICO: DA TRIAGEM À APROVAÇÃO NO FDA

O objetivo de qualquer estudo na área farmacológica, de uma maneira geral, de acordo com as Agências regulamentadoras, nacional (ANVISA) e Americana (FDA), é garantir que os novos medicamentos sejam seguros para consumo, em outras palavras, é necessário que os princípios ativos desses medicamentos estejam numa formulação estável e que seu efeito seja específico com um mínimo de efeitos indesejados.

Quando se estuda doenças multifatoriais de ampla incidência global, como o câncer, objetiva-se, principalmente, a otimização dos tratamentos atuais disponíveis. A última etapa de estudo de um medicamento, antes de sua regulamentação, é o estudo clínico, que embora dividido em várias fases, tem em comum o fato de o estudo ser realizado em seres humanos.

No Brasil, o órgão regulamentador de medicamentos é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Segundo dados da ANVISA (2018), as pesquisas clínicas são realizadas a partir de estudos com humanos para medir os parâmetros de segurança e eficácia de novos medicamentos, sendo esta uma etapa essencial para determinação de novas alternativas terapêuticas no mercado. Os ensaios clínicos estão divididos em fases I, II, III e IV, de acordo com a quantidade de participantes e os objetivos específicos da cada etapa.

Agências nacionais e internacionais existem para validar aqueles compostos que passaram por toda a cadeia farmacológica, para que finalmente eles possam ser utilizados na clínica. O FDA, por exemplo, tem por objetivo garantir que os medicamentos comercializados nos EUA sejam seguros e eficazes, esse controle é realizado através do Centro de Avaliação e Pesquisa de Drogas (CDER) (FDA, 2015).

Nesse contexto, existem atualmente 177 estudos clínicos sendo desenvolvidos em todo o mundo, relacionando a epigenética e o câncer, seja por meio de compostos que ocasionam alterações epigenéticas ou pela interferência epigenética idiopática nos tratamentos convencionais. É notória a participação quase inexistente dos países da América do Sul no progresso de estudos nessa área. Atualmente, há um trabalho em fase clínica, sendo desenvolvido no Hospital Sírio Libanês, em São Paulo – Brasil. O trabalho embora seja de caráter observacional, é um dos três representantes da América do Sul (Figura 4).

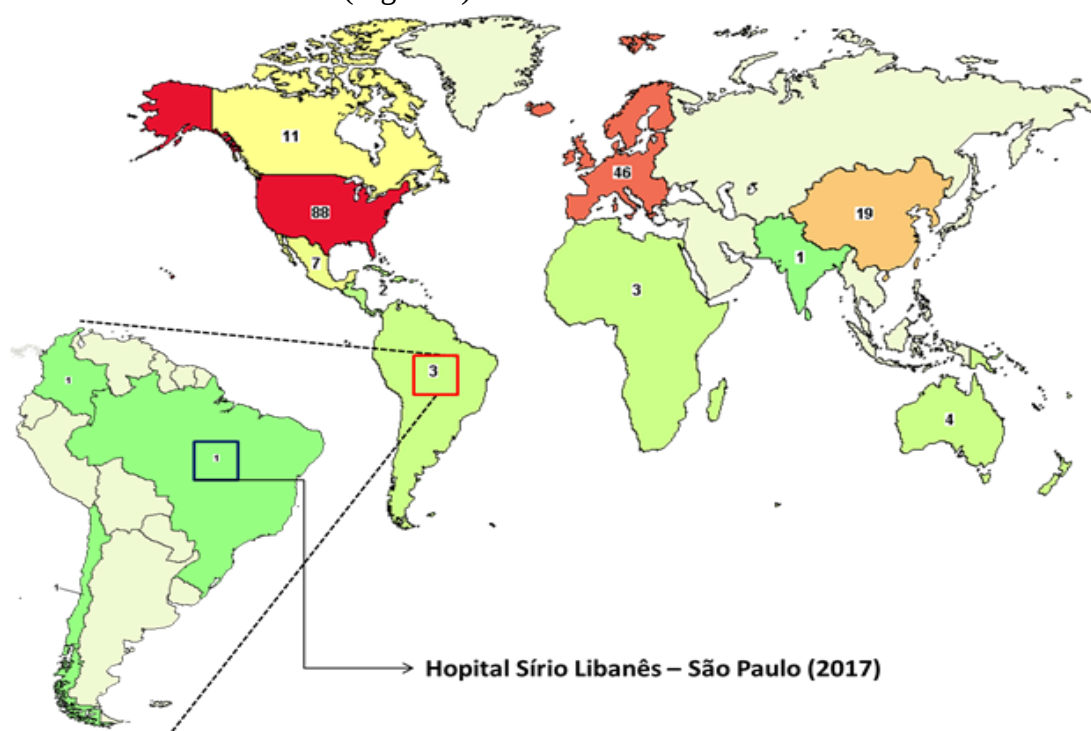


Figura 4 – Avaliação dos estudos clínicos em progresso no mundo, segundo clinicaltrials.gov. Pesquisa realizada em Março de 2018.

Fonte: Autoria própria (2018).

Em se tratando de compostos com comprovado mecanismo de ação epigenético, documentado pela Agência Americana FDA, existem atualmente sete medicamentos aprovados. O fator comum observado entre maior parte desses compostos é a tendência ao uso para tratamento de hematocologias. Destaca-se o ano de 2006, por nele estar presente os dois primeiros medicamentos epigenéticos aprovados pelo FDA, Vorinostat e Decitabina, tendo como alvos, histonas desacetilases (HDAC) e DNA metiltransferase, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Descrição dos compostos com ação epigenética (Epidrogas) aprovados pelo FDA por ano, indicação do tratamento, Empresa depositante e mecanismo de ação epigenético.

Ano	Medicamento(s)	Indicação/Tratamento	Empresa	Mecanismo de ação
2015	Panobinostat + Bortezomib + Dexamethasone (FARYDAK)	Mieloma múltiplo	Novartis Pharmaceutical	Inibidor de Histona desacetilase (iHDAC)
2014	Belinostat (BELODAQ)	Linfoma periférico de células T (Recidiva ou refratário) (PTCL)	Spectrum Pharmaceuticals Inc.	Inibidor de Histona desacetilase (iHDAC)
2010	Ácido Valproico	Antidepressivo Desordens neurológicas Agente antineoplásico*	Abbott Laboratories	Inibidor de Histona desacetilase (iHDAC)
2009	Romidepsin (IXODAX)	Linfoma cutâneo de células T (LCCT)	Gloucester Pharmaceuticals Inc.	Inibidor de Histona desacetilase (iHDAC)
2009	5 azacitidina (VIDAZA)	Síndrome Mielodisplásica (SMD)	Actavis LLC	Análogo de pirimidina Inibidor de DNA metiltransferase
2006	Vorinostat (ZOLINZA)	Linfoma cutâneo de células T (LCCT)	Merck & Co., Inc.	Inibidor de Histona desacetilase (iHDAC)

*Esta aplicação não estava documentada pelo FDA, na data de consulta (Mar, 2018).

Fonte: Autoria própria (2018).

Os estudos clínicos são os norteadores de quais compostos seguirão para a etapa de regulamentação. A quantidade de estudos clínicos sendo realizados nos EUA (88) e a quantidade de medicamentos epigenéticos regulamentados pelo FDA (7), representam cerca de 8%. Embora esse percentual não se aplique de maneira global na escala farmacológica, pode-se considerar uma grande representação de compostos epigenéticos sendo desenvolvidos atualmente.

Nota-se também que não há um monopólio no estudo e desenvolvimento desses compostos/medicamentos, observando-se que sete empresas diferentes são depositantes das epidrogas aprovadas pela agência reguladora Americana (FDA).

O estado da arte de uma determinada técnica ou assunto denota todos os campos e estudos explorados e descritos até o momento, nesse sentido os estudos epigenéticos de neoplasias, ou o uso de drogas epigenéticas em terapias oncológicas indicam uma forte tendência a crescimento, uma vez que se trata de uma proposta de terapia recente, diretamente relacionada a uma doença de elevada complexidade como o câncer, tendo ainda uma grande amplitude de campos a serem estudados para completa elucidação das inúmeras possibilidades de modificações epigenéticas, genéticas e tumorais.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É notória, em todos os campos de estudos analisados, a tendência contemporânea à busca por compostos seletivos e com o mínimo de efeitos tóxicos. As Epidrogas surgiram como uma nova opção de reprogramação epigenética em processos neoplásicos, de modo a favorecer o alcance de melhores prognósticos nas atuais terapias oncológicas. O crescente número de trabalhos, produtos e até mesmo de medicamentos regulamentados são a grande evidência que esses compostos somam-se as melhores ferramentas terapêuticas de encontro ao câncer.

REFERÊNCIAS

- ARIEL, I. et al. The imprinted H19 gene is a marker of early recurrence in human bladder carcinoma. **Molecular Pathology**. v. 53, n. 6, p.320-323, 2000.
- BENNETT, M. J. et al. **Bromodomain inhibitors**. In A61K31/4965; A61P35/00; C07D237/14; C07D241/20/ EP3290407(A1) 07 mar 2018. ESPACENET, disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20180307&CC=EP&NR=3290407A1&KC=A1> Acesso em: 27 março 2018.
- CANCER TREATMENT RESEARCH. National Health Institute (NHI). Disponível em: <<http://www.cancer.gov/research/areas/treatment>> Acesso: 28.03.2018.
- CDER SCIENCE AND RESEARCH PROGRAMS INFOGRAPHIC, New Hampshire, USA – Food and Drug Administration (FDA) (2015) Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ucm319528.htm>> Acesso: 28.03.2018.
- FEINBERG, A. P.; OHLSSON, R.; HENIKOFF, S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. **Nature Reviews Genetics**. v. 7, n. 1, p. 21-33, 2006.
- HAIG, D. The (dual) origin of epigenetics. **Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology**. v. 69, p. 67-70, 2004.
- HOSHIDA, Y. et al. Molecular classification and novel targets in hepatocellular carcinoma: recent advancements. **Seminars in Liver Disease** v.30, n. 1, p. 35-51, 2010.
- HSU, F.T., et al. Sorafenib increases efficacy of vorinostat against human hepatocellular carcinoma through transduction inhibition of vorinostat-induced ERK/NF-kappaB signaling. **International Journal of Oncology**. v. 45, n. 1, p. 177-188, 2014.
- JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. v. 61, n. 2, p.69-90, 2011.
- LIND, G. E. et al. **Methods and biomarkers for detection of bladder cancer**. In C12Q1/68/ US2018023147(A1). 25 jan 2018. ESPACENET, disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=4&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20180125&CC=US&NR=2018023147A1&KC=A1> Acesso em: 27 março 2018.
- QI, Y. et al. HEDD: The human epigenetic drug database. Database (Oxford). 2016;
- REGULARIZAÇÃO DE EMPRESAS – MEDICAMENTOS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/pesquisa-clinica>> Acesso: 28.03.2018.
- REIK, W.; SANTOS, F.; DEAN, W. Mammalian epigenomics: reprogramming the genome for development and therapy. **Theriogenology**. v. 59, n. 1, p.21-32, 2003.
- RODRIGUEZ-PAREDES, M.; ESTELLER, M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. **Nature Medicine**. v. 17, n. 3, p. 330-339 2011.
- SHARMA, S.; KELLY, T.K.; JONES, P. A. Epigenetics in cancer. **Carcinogenesis**. v. 31, n. 1, p. 27-36, 2010.

VASCONCELOS, L. Miguel Pestana de – “Algumas Notas para uma Análise Comparada dos Requisitos de patenteabilidade nos Direitos Europeu – CPE – (Português – CPI) e dos Estados Unidos”. em: <URL: <http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/23941/2/2724.pdf>> Acesso 28.03.2018.

WADDINGTON, C. H. Canalization of development and the inheritance of the acquired characters. **Nature**. v. 150, n. 3811, p. 563-565, 1942.

WANG, Z.; SCHONES, D. E.; ZHAO, K. Characterization of human epigenomes. **Current Opinion in Genetics & Development**. v.19, n. 2, p.127-134, 2009.

YASSEN, A. et al. Intratumor heterogeneity in epigenetic patterns, **Seminars in Cancer Biology**, 2018.