



**Universidade Federal da Integração Latino-Americana  
Foz do Iguaçu - PR**

# **Biologia Molecular do Câncer**

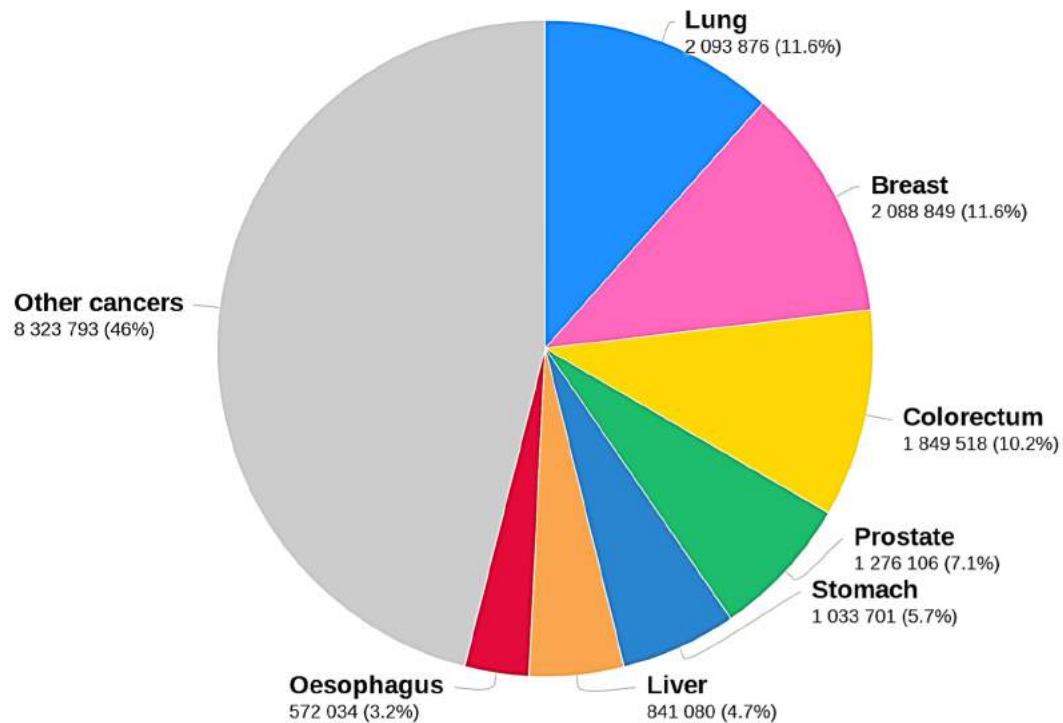
**Prof. Dr. Rodrigo Pinheiro Araldi**



# Introdução à oncologia

## O câncer em números

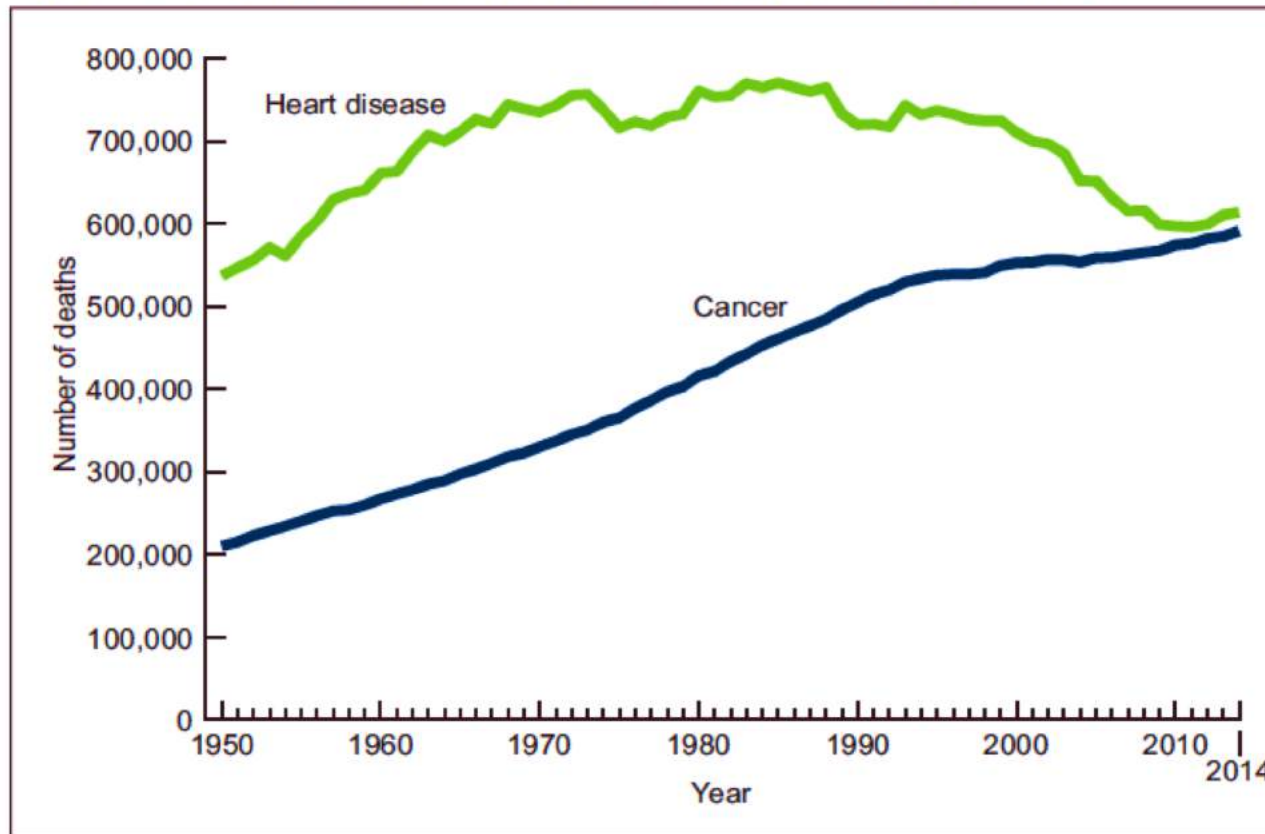
Estimated number of new cases in 2018, worldwide, all cancers, both sexes, all ages



Total : 18 078 957

# O maior desafio na saúde pública mundial

Figure 1. Number of deaths due to heart disease and cancer: United States, 1950–2014





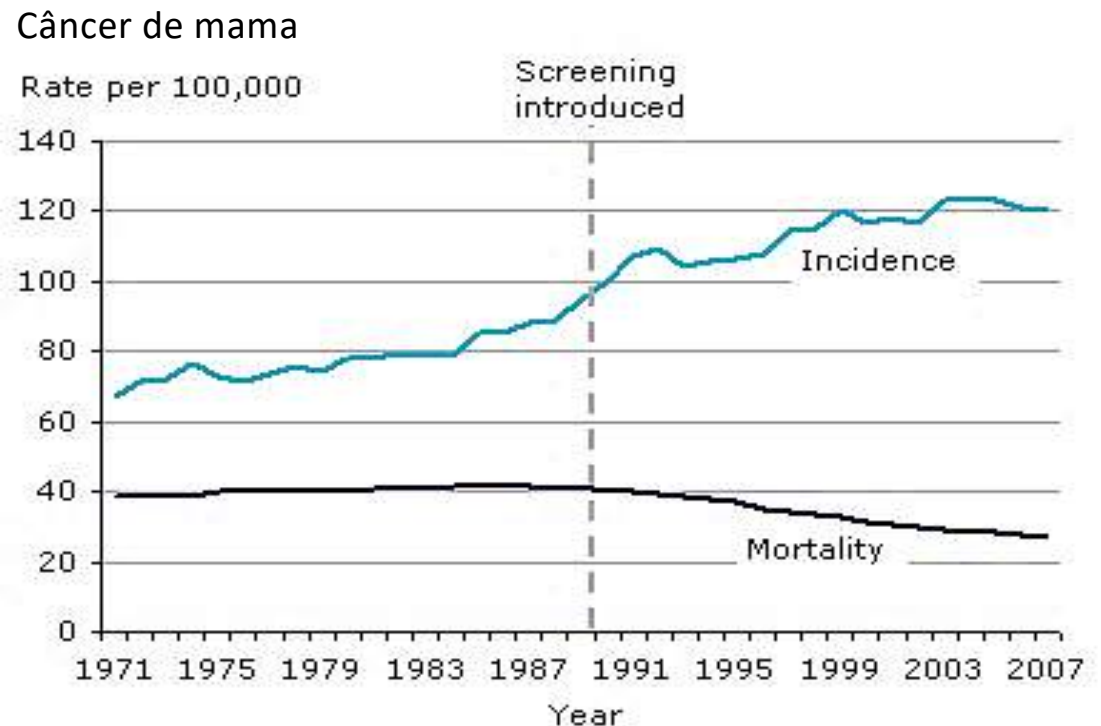
# Câncer: Um velho conhecido

Papiro egípcio (3.000 a.C)



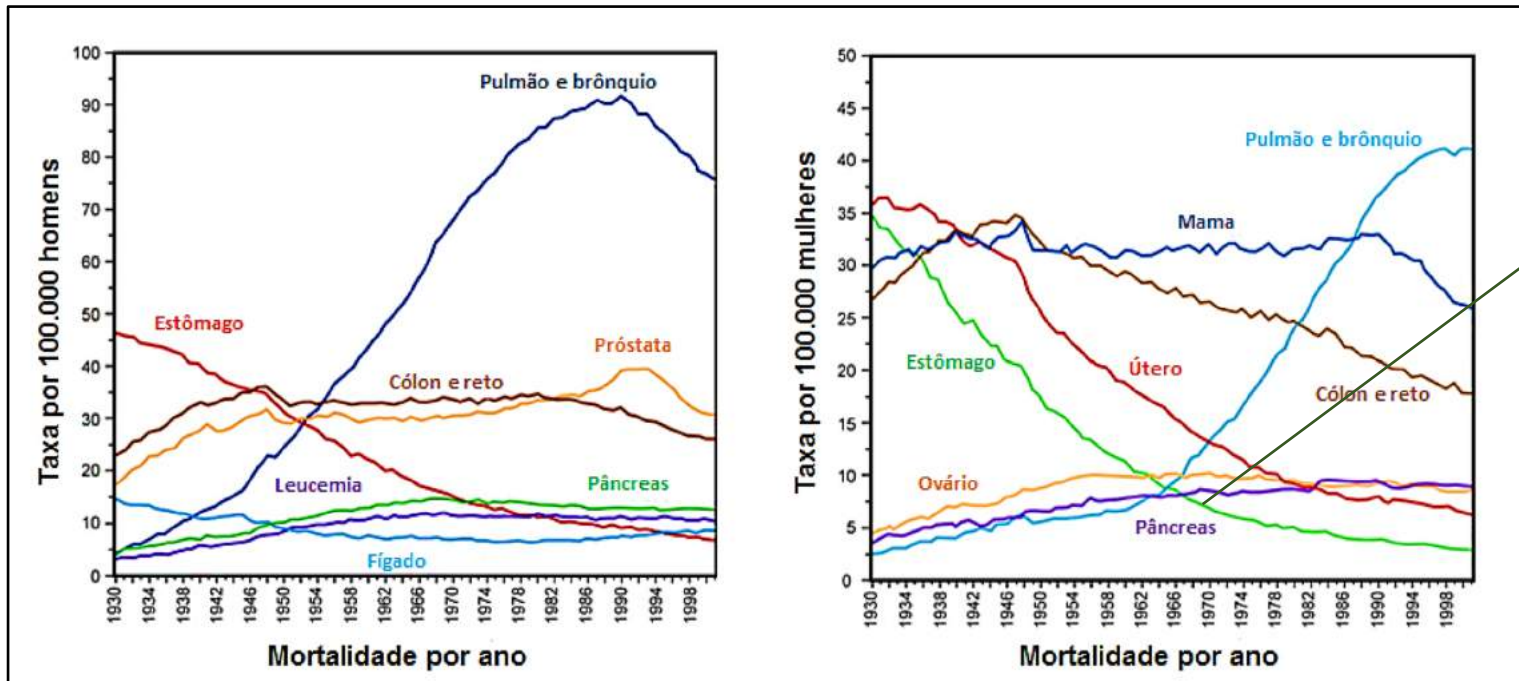
# Impactos epidemiológicos do diagnóstico precoce

- **Diagnóstico tardio**
- Sinais e sintomas da doença
- Doença **localmente invasiva** ou **metastática**
- Novos métodos diagnósticos
  - Diagnóstico por imagem
  - **Biópsias líquidas**: análise de DNA circulante ou células cancerígenas circulantes



# O câncer pode ser evitado?

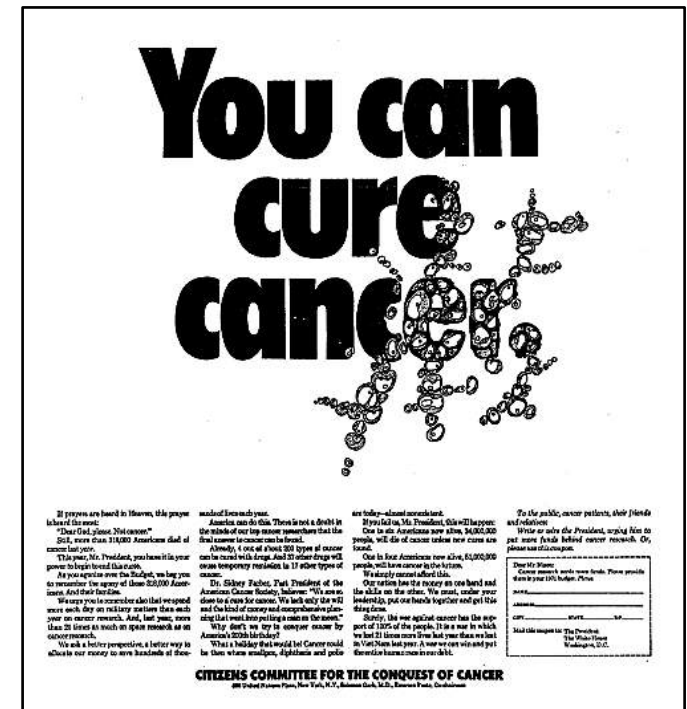
- 50% dos casos poderiam ser evitados



Fonte: Modificado de Suresh (2007)

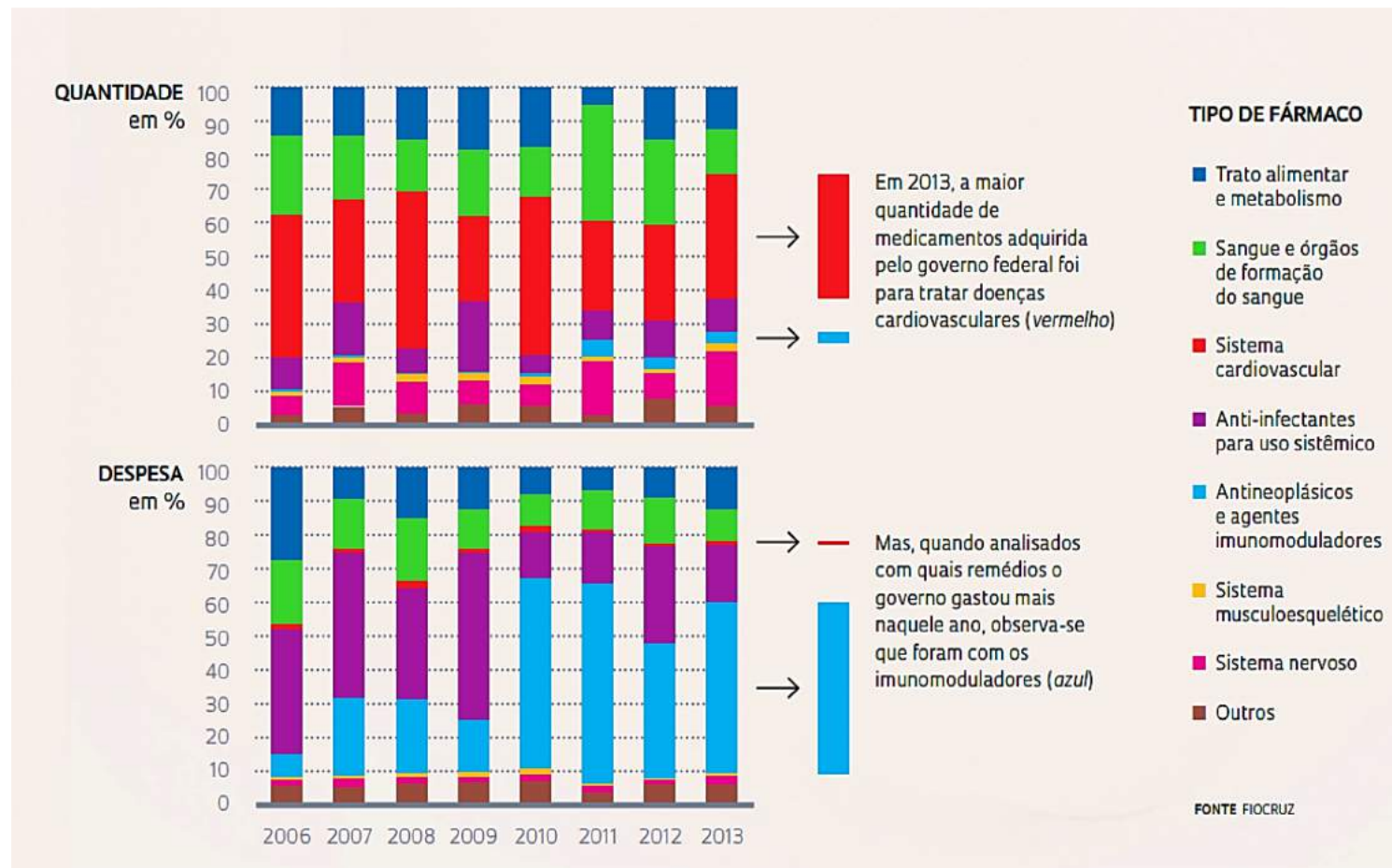
## Aspectos político-econômicos da oncologia

- Até a década de 1960: **poucas informações acerca da biologia do câncer**
- **“Guerra contra o câncer”** (EUA): 9/12/1969
- **“Nixon: you can cure the cancer”** (*The Washington Post* e *The New York Times*)
- Congresso investe no *National Cancer Institute* (NCI)
- **1971: corrida farmacêutica**
- **2011: aniversário de 40 anos do *National Cancer Act* (1971)**, o diretor do NCI, Dr. Harold Varmus considerou a **doença incurável**





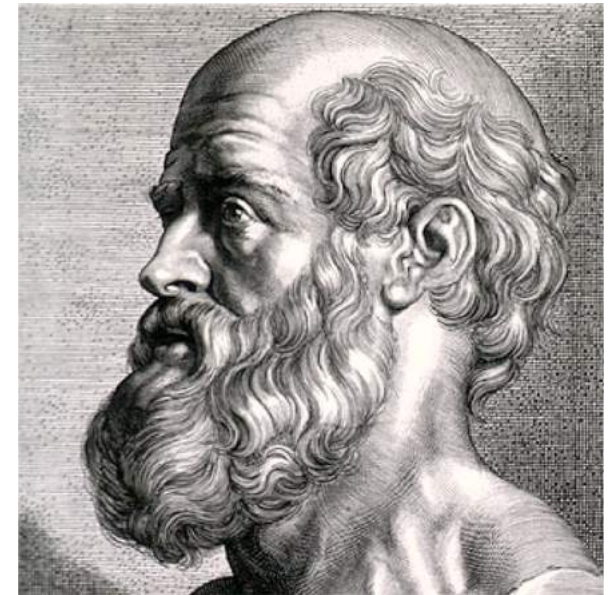
## Impactos do câncer na economia



## A busca por uma explicação

- **Teoria humoral:** Hipócrates - câncer resulta do desbalanço de quatro fluidos corporais (humor) – sangue, flegma (*phlegm*), bile amarela e bile negra – levando ao acúmulo desta. Esta teoria foi aceita até a Idade Média (1300), quando as autópsias eram proibidas
- **Teoria linfática:** proposta no século XVII, acreditava que a vida consistia no movimento de fluídos como sangue e linfa e que o câncer era uma consequência do **aumento da linfa**

Hipócrates





## A busca por uma teoria continua..

- **Teoria do blastema:** Muller demonstrou que **câncer era composto por células e não por linfa** em 1838. Seu aluno, Virchow (1821-1902) mostrou que as **células cancerígenas eram derivadas de outras células**
- **Teoria da irritação crônica:** Virchow (1858) mostrou que a irritação causava o câncer e, mais tarde, Thiersch verificou que **câncer poderia se espalhar para órgãos distantes**

Rudolph Virchow



## A busca por uma teoria continua..

- **Teoria do parasita:** até o século XVIII, cientistas acreditavam que **câncer era contagioso e se espalhava por meio de parasitas**
- **Modelo estocástico:** proposto pelo cirurgião e oncologista Karl-Heinrich Bauer (1928) e confirmado com a elucidação da estrutura do DNA (1953), **acúmulo de mutações leva ao câncer**

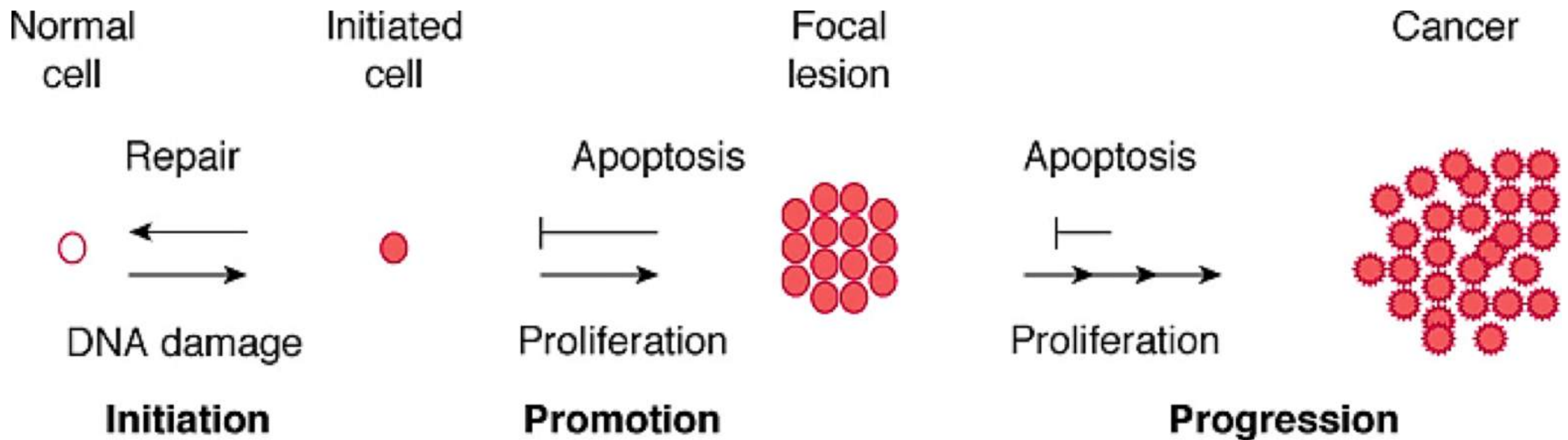
Karl-Heinrich Bauer



# Conceitos básicos em oncologia

- Origem do câncer:
  - **Somático**: a partir de qualquer célula madura (90-95% dos casos)
  - **Germinativo**: a partir de células embrionárias (5-10% dos casos)
- Tipos de cânceres:
  - **Carcinomas** (95%): originados a partir de células epiteliais
  - **Sarcomas** (5%): originados a partir de células mesenquimais

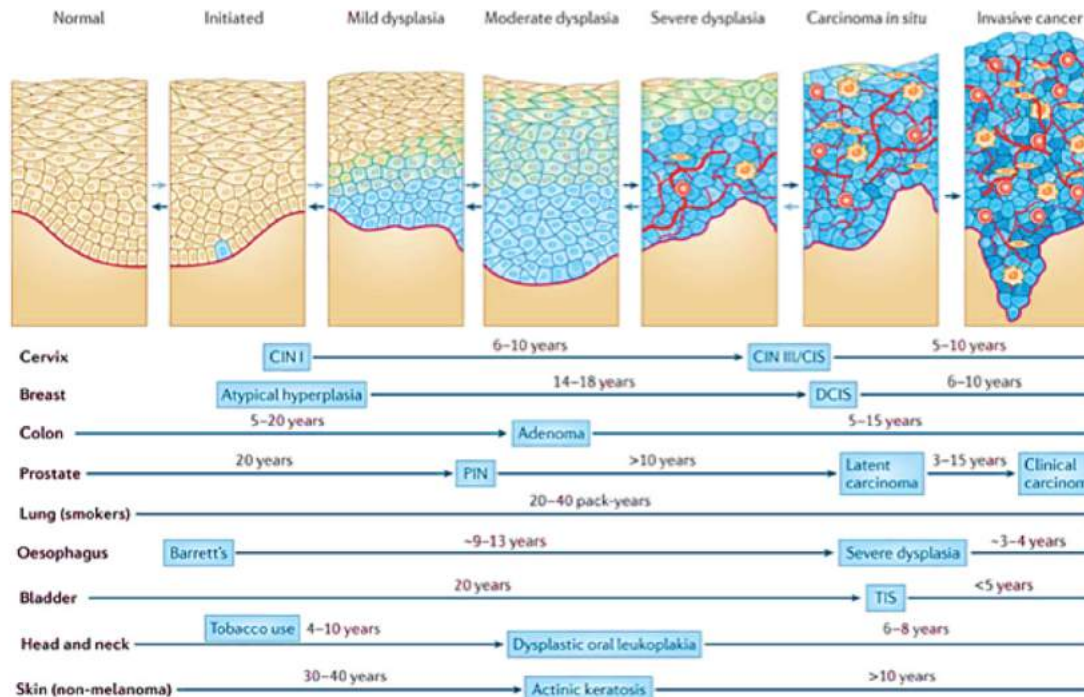
# Processo oncogênico



Source: Klaassen CD, Watkins JB: *Casarett & Doull's Essentials of Toxicology, 2nd Edition*: <http://www.accesspharmacy.com>  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

# Carcinogênese: processo rápido ou demorado?

## Carcinogenesis Takes Time

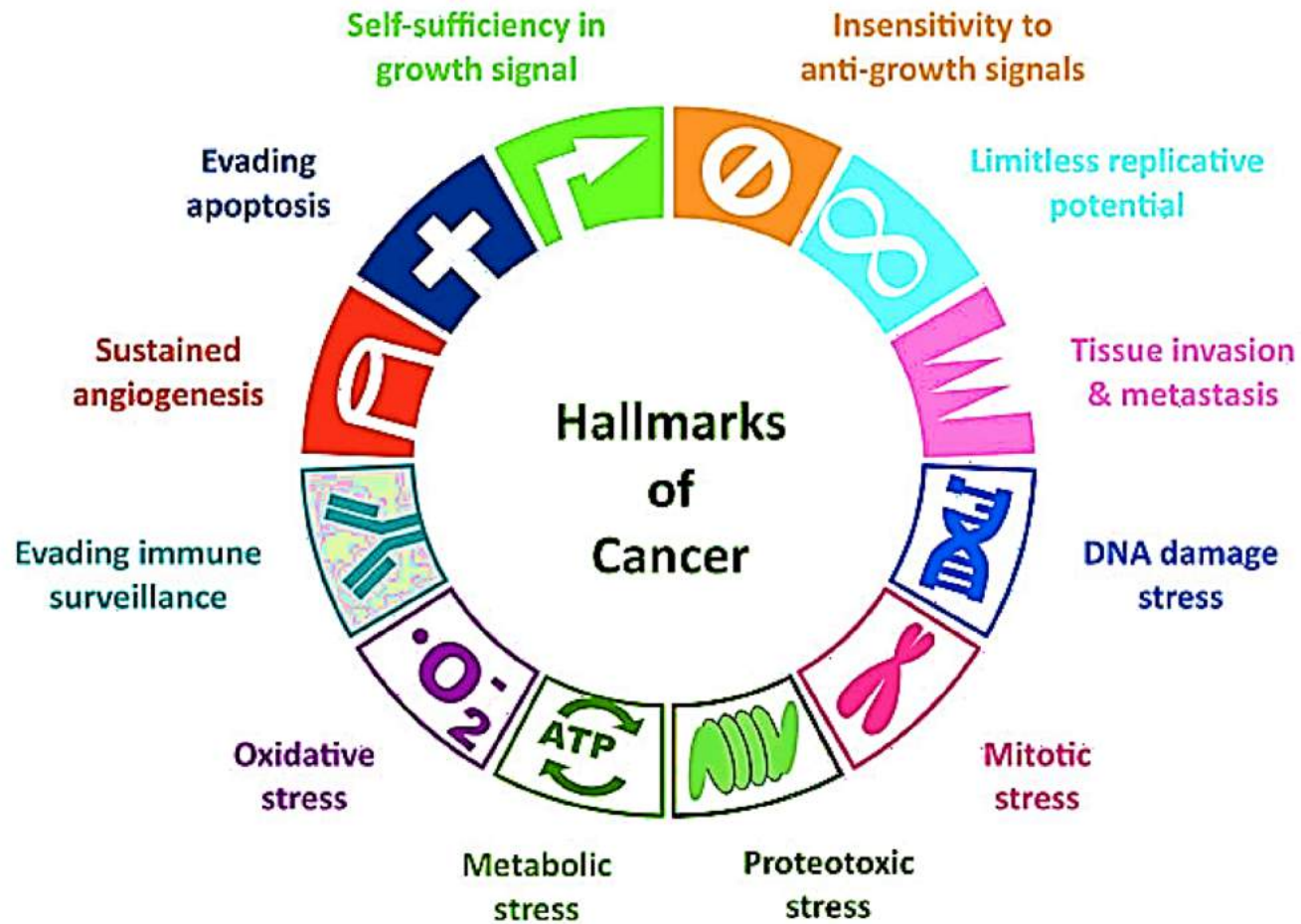


# Biologia Molecular do Câncer



H

Dou  
1The  
2The  
3Whi  
MA C  
\*Con  
DOI



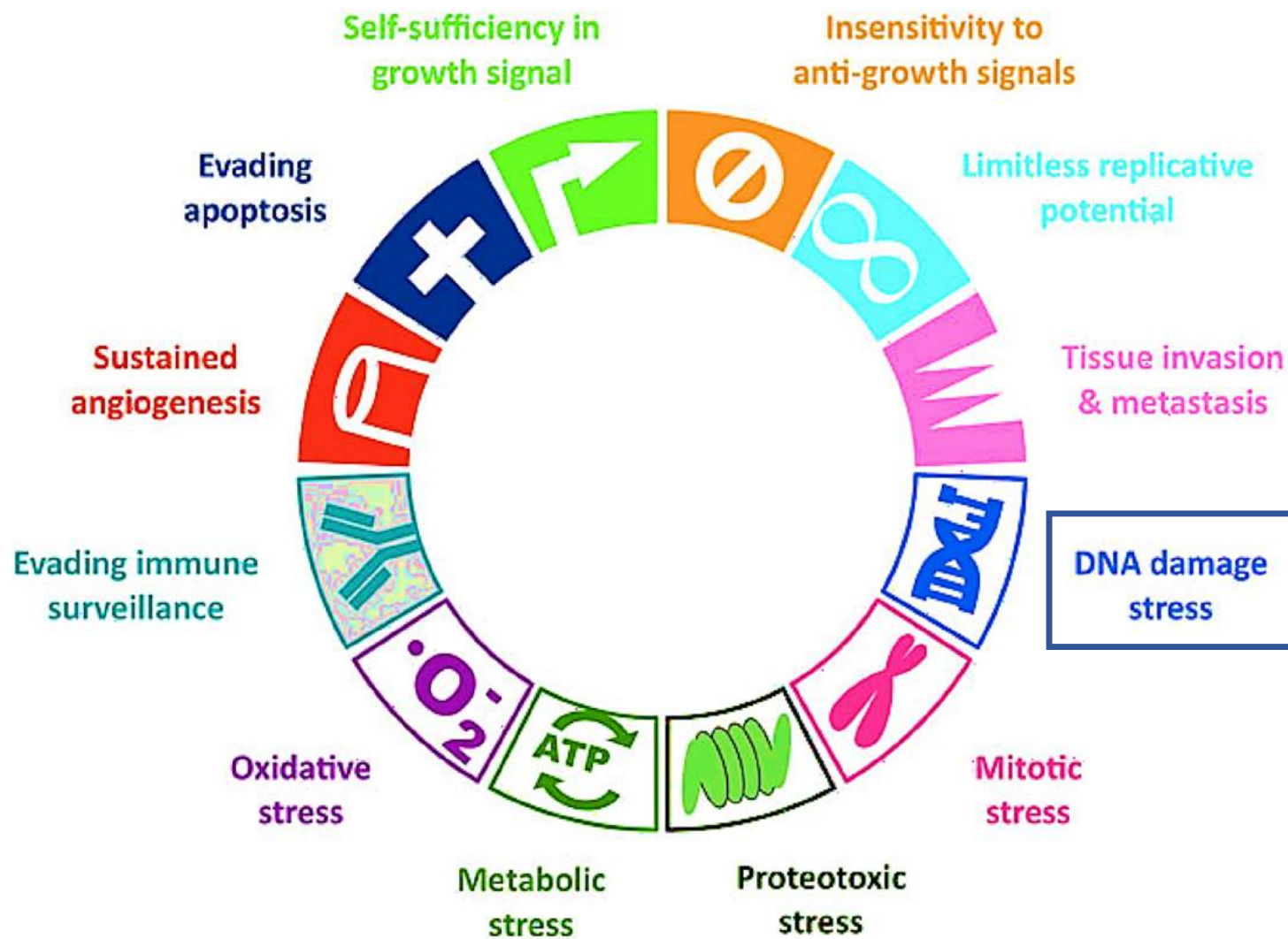
Leading Edge  
Review

erland  
, Cambridge,

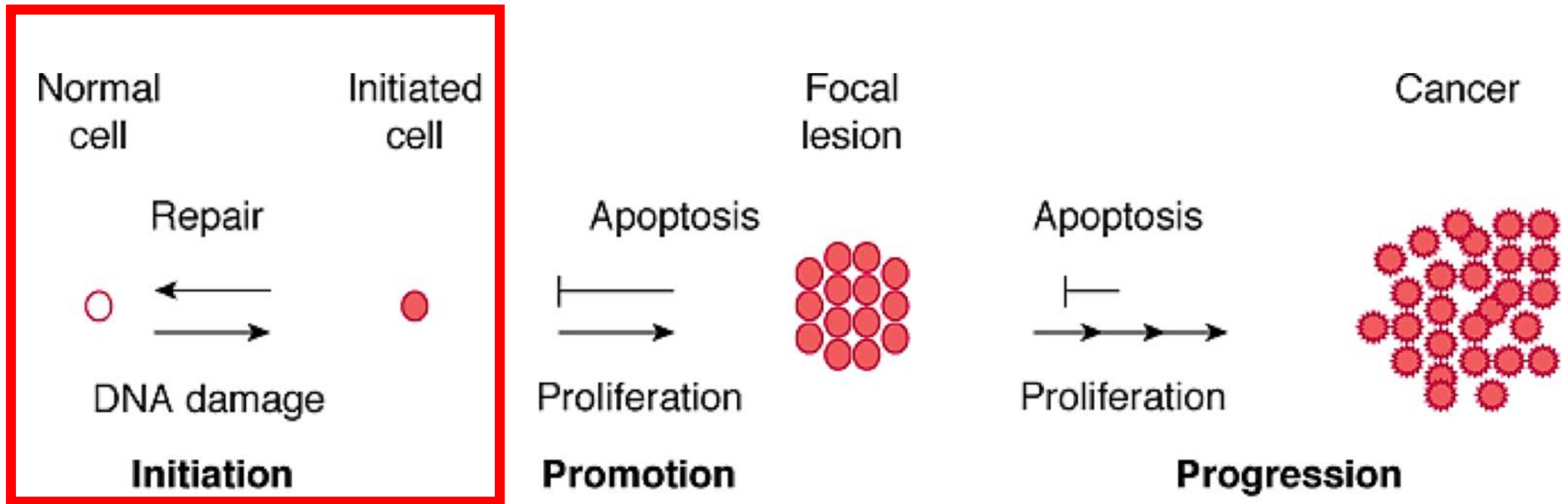




Iniciação neoplásica

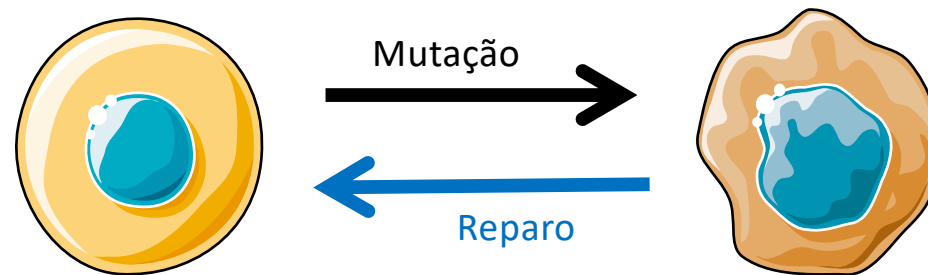


# Processo oncogênico



Source: Klaassen CD, Watkins JB: *Casarett & Doull's Essentials of Toxicology, 2nd Edition*: <http://www.accesspharmacy.com>  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

# O que é necessário para a transformação?



## Conceituando...

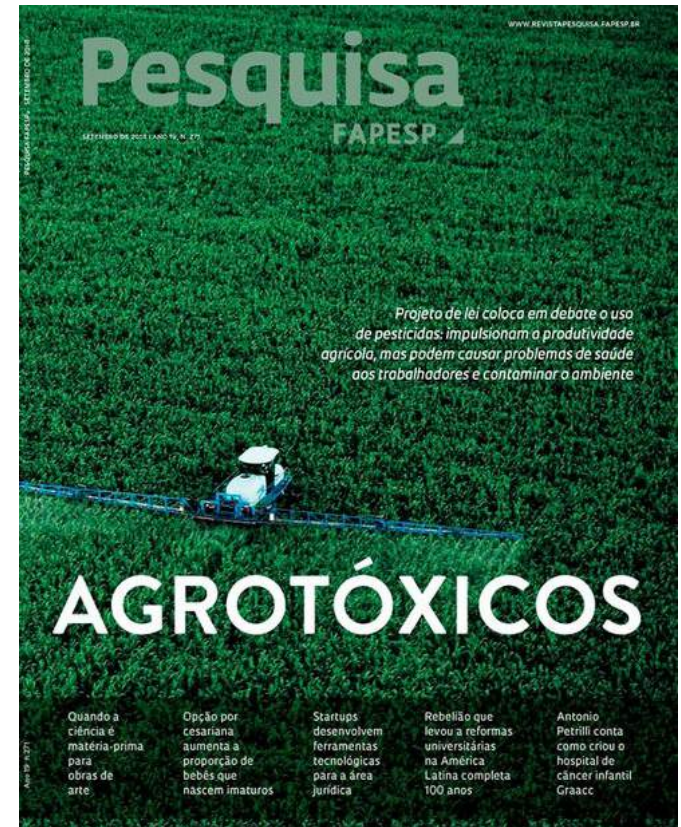
- **Mutação:** alteração genética hereditária que ocorrem em uma frequência  $< 1\%$
- **Polimorfismo:** Alterações genéticas hereditárias verificadas em mais de 1% da população
- Podendo ser **germinativa** ou **somática**
- DNA nuclear (DNAn) e/ou mitocondrial (DNAm)
- *Hotspots*



# Mas o que promove mutações?

- **Fatores exógenos**

- Agentes físicos, químicos e biológicos
- **Agrotóxicos:**
  - Causam 200.000 óbitos/ano mundo (ONU)
  - 25 intoxicações/dia no Brasil
  - Venda no Brasil movimentada U\$ 10 bilhões/ano
  - 20% do mercado global (US\$ 50 bilhões/ano)
  - 2017: Brasil consumiu 540 mil toneladas (50% a mais do que 2010)
  - Projeto de Lei (PL) 6299/02 – “Pacote do veneno”
  - Substituição da **avaliação de periculosidade** (mutagênese e teratogênese) por **avaliação de risco**
  - Monsanto: condenado a pagar US\$ 289 milhões a Dewayer Johnson por câncer causado por Roundup





## Biologia Molecular do Câncer

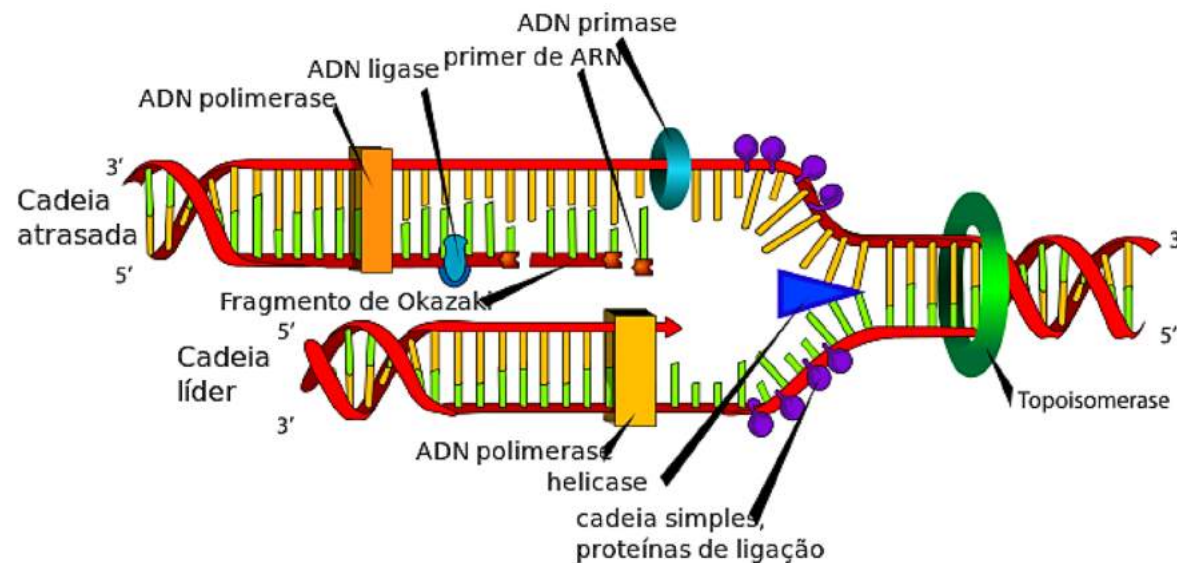
- **Fatores endógenos**

- Erros de **replicação do DNA**

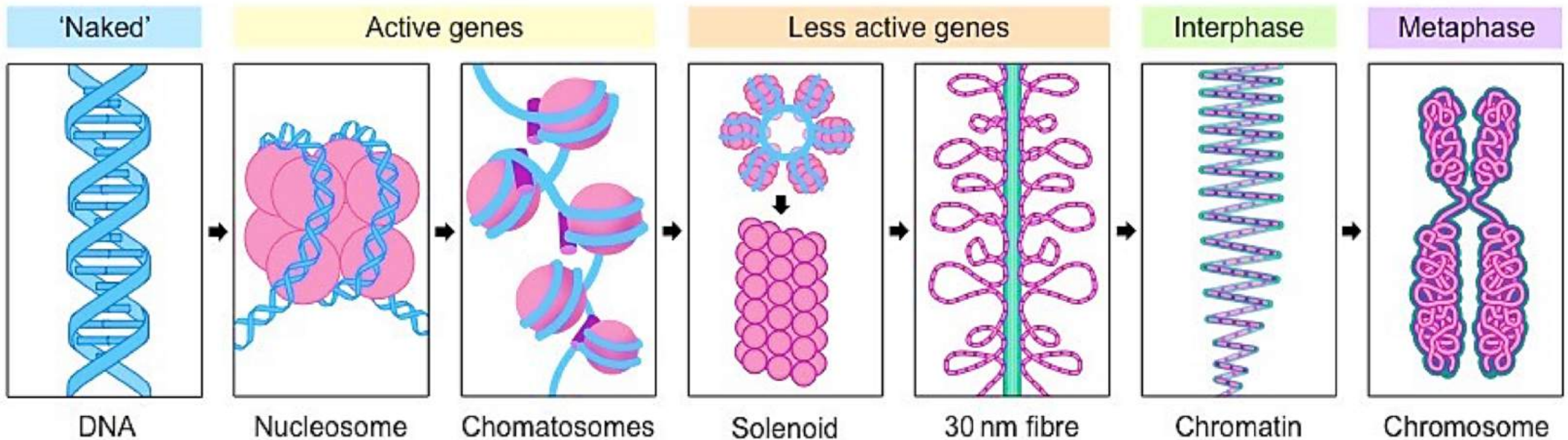
- Taxa média de erros:  $0,1 \times 10^{-5}$  ou  $10^{-6}$ /geração
    - Gene da distrofina:  $1 \times 10^{-4}$
    - 1 a cada 20 pessoas herda uma mutação deletéria

- **Decaimento molecular:** aumento das mutações com a idade

- Metabolismo oxidativo: radicais livres

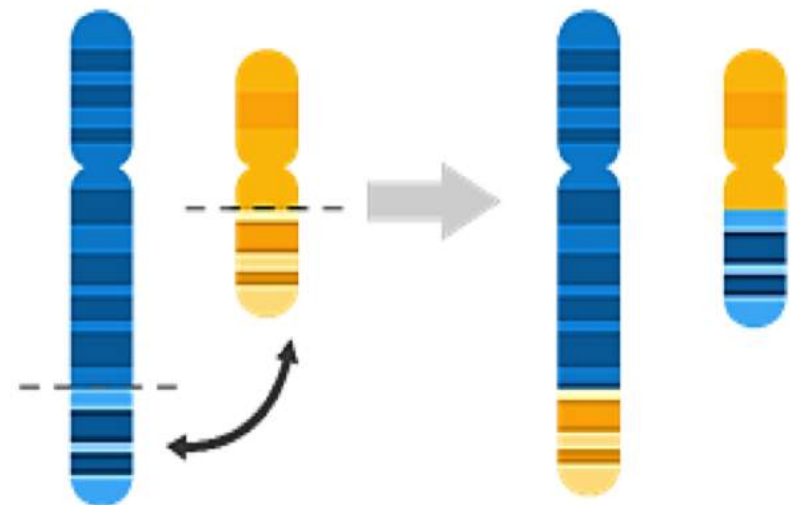


# Mutações genômicas e gênicas

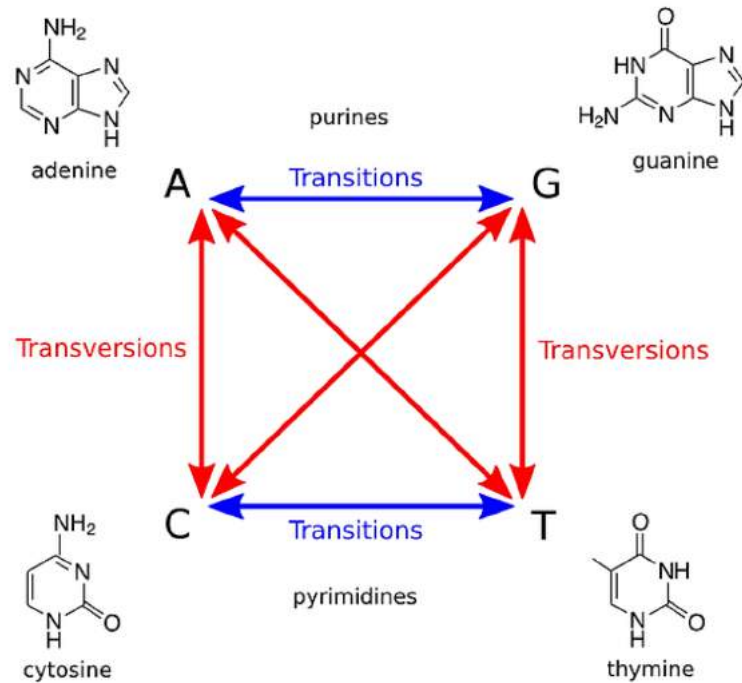


## Mutações genômicas

- Envolvem regiões cromossômicas
- Englobam vários genes
- Alterações numéricas
  - Poliploidias (3n, 4n, 5n etc.)
  - Aneuploidias
    - Monossomias (45, x<sub>-</sub>, -1)
    - Trissomias (47, x<sub>+</sub>, +21)
- Alterações estruturais
  - Deleções intersticiais ou terminais
  - Duplicações
  - Inversões
  - Translocações

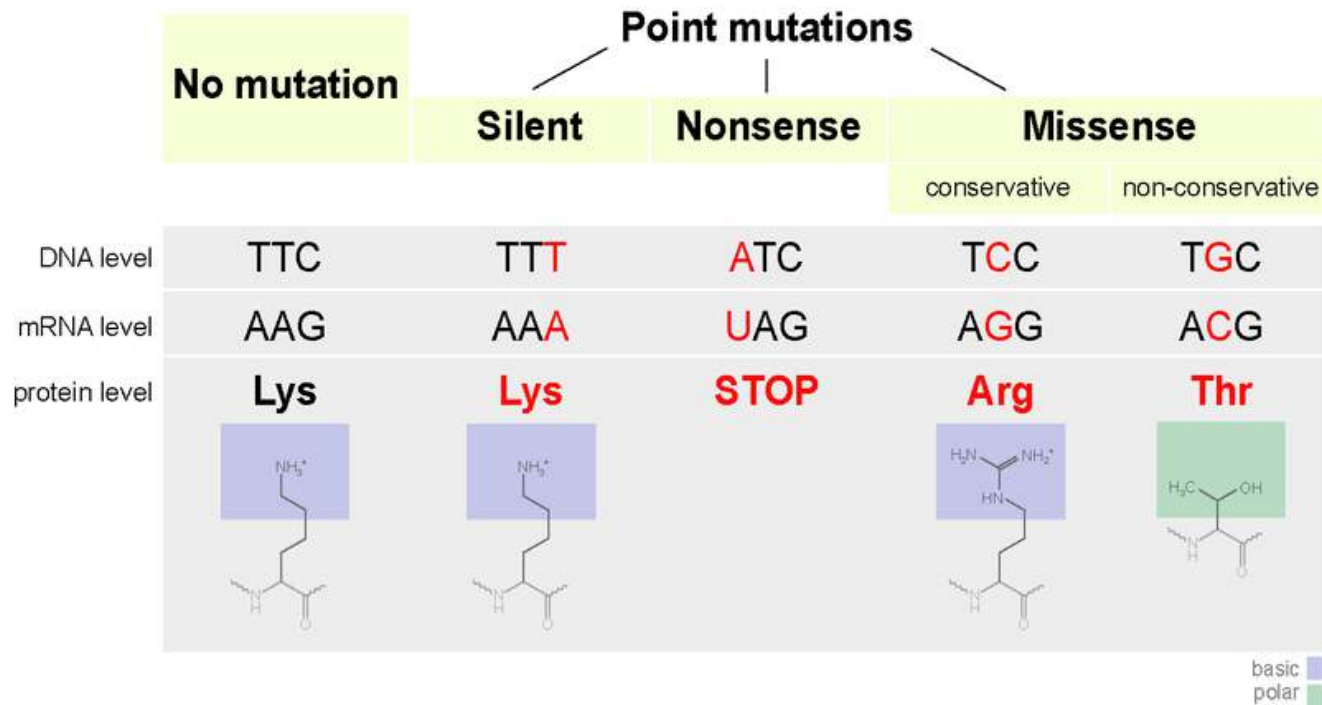


# Mutações gênicas



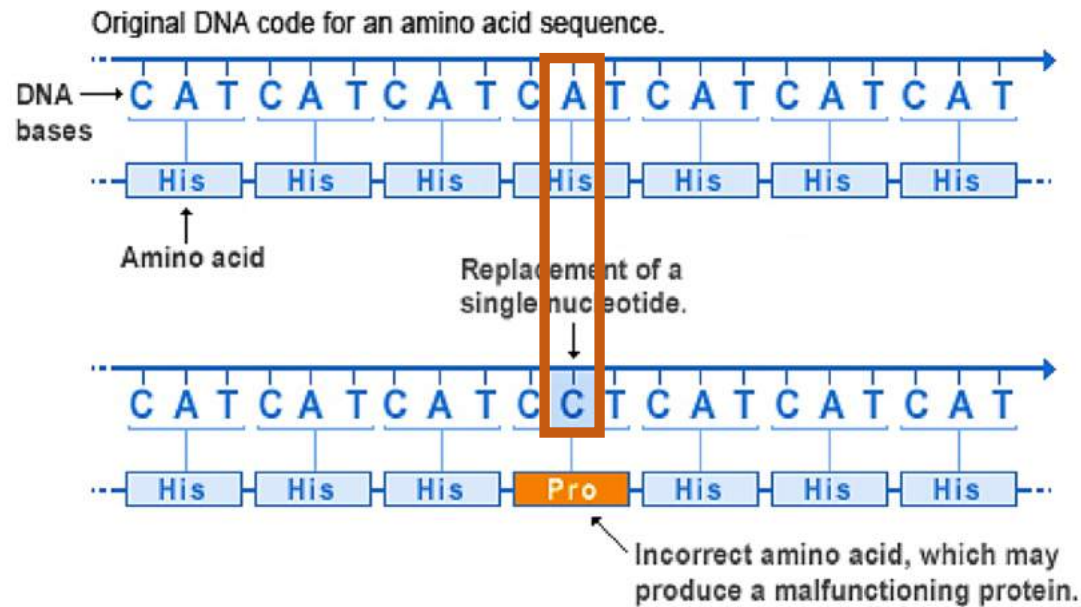
Fonte: <https://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Transitions-transversions-v3.png>

# Tipos de mutação por efeito na proteína



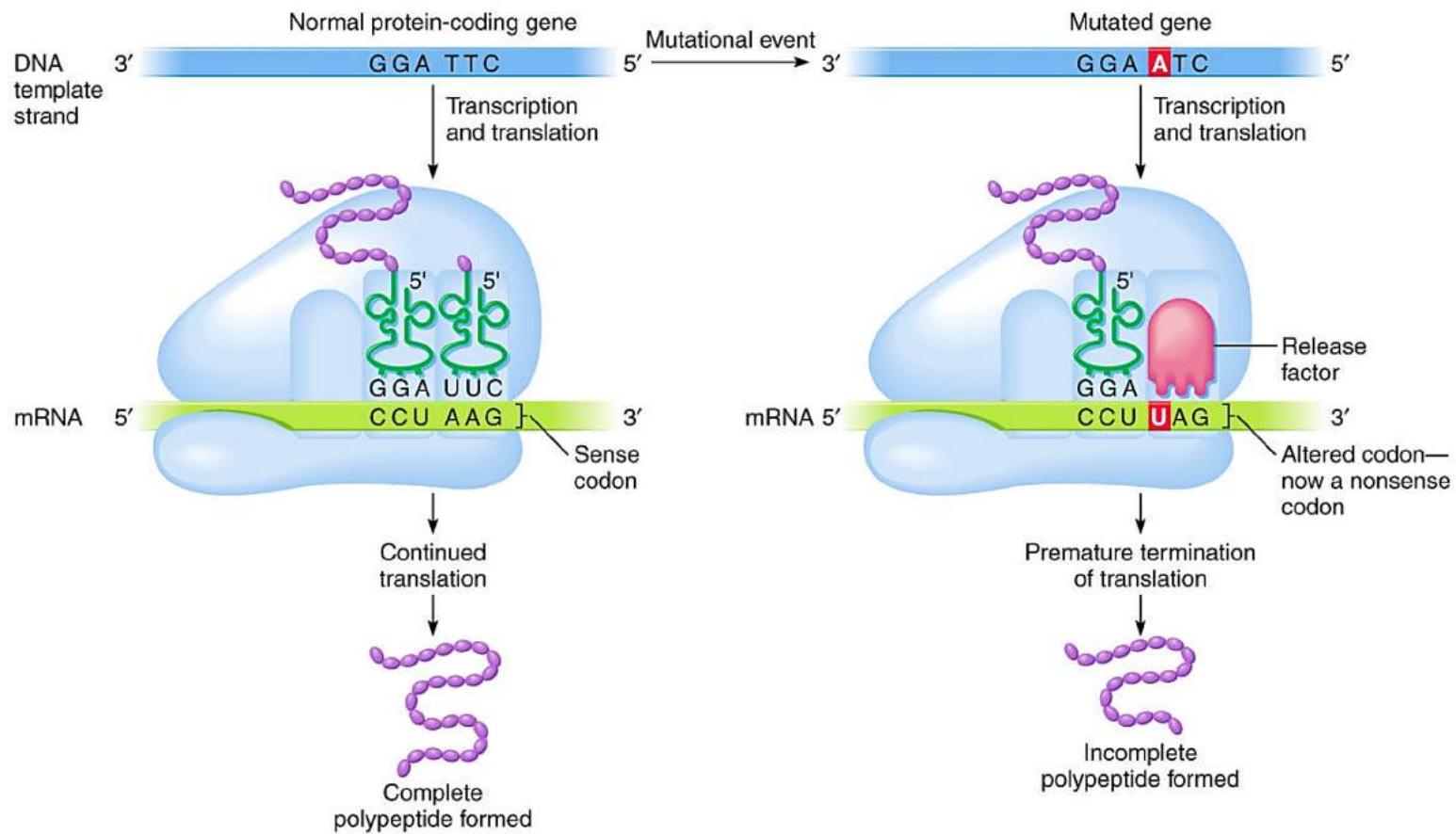
# Mutação *missense* (troca de sentido)

## Missense mutation



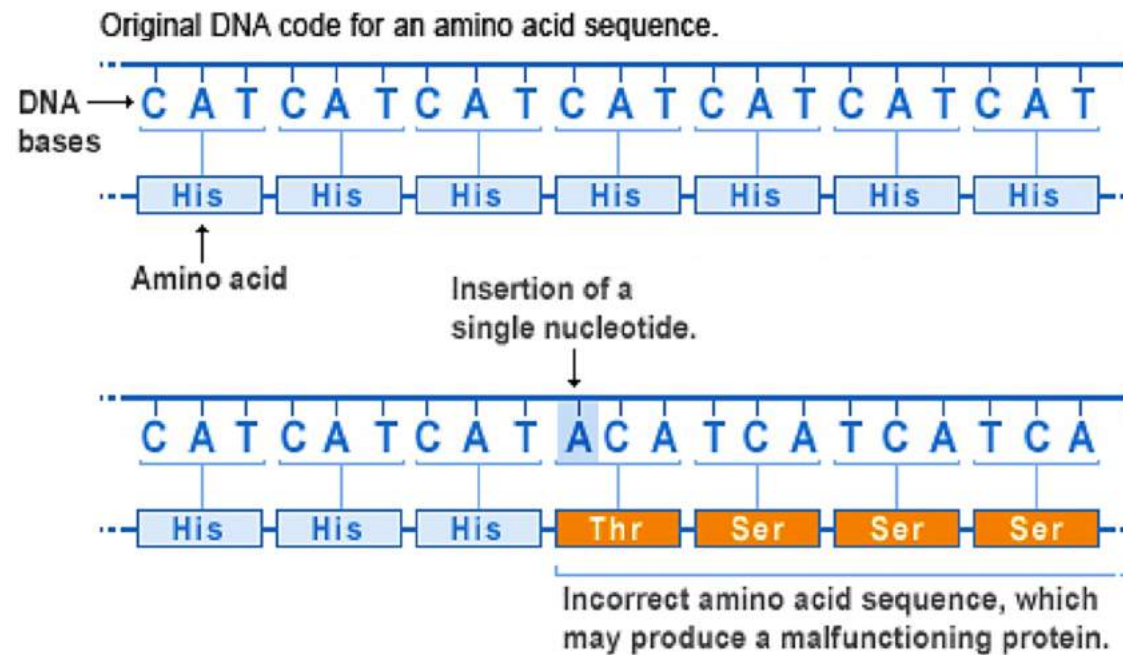


# Mutação *nonsense* (sem sentido)



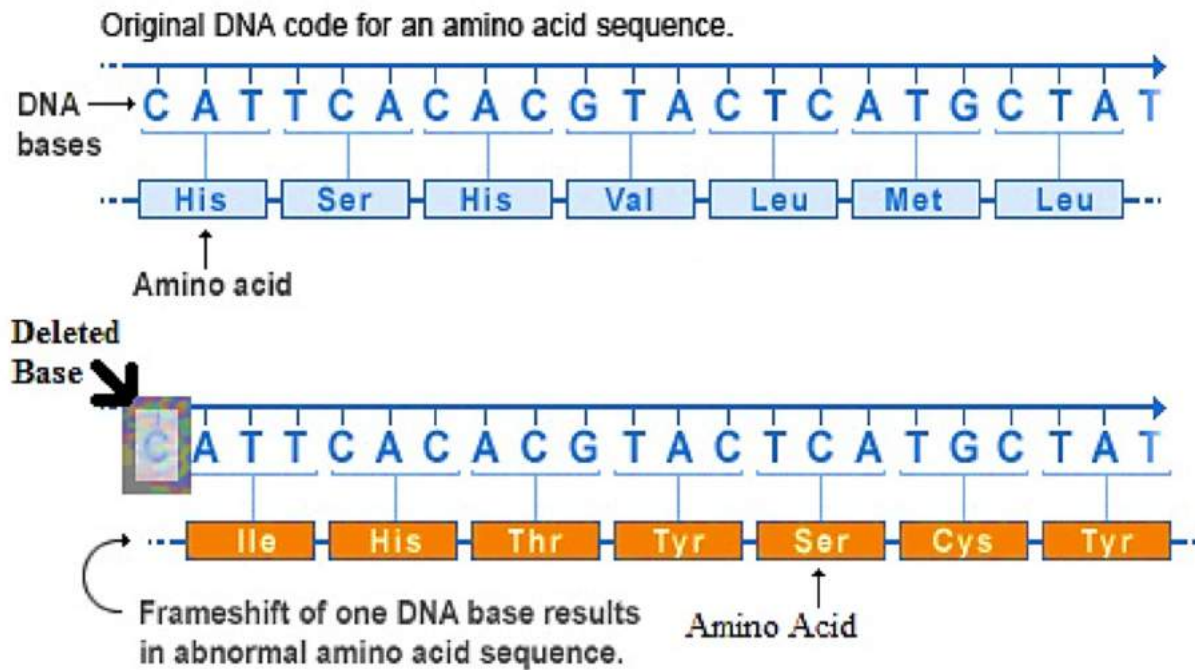
# Inserção de nucleotídeo

Insertion mutation



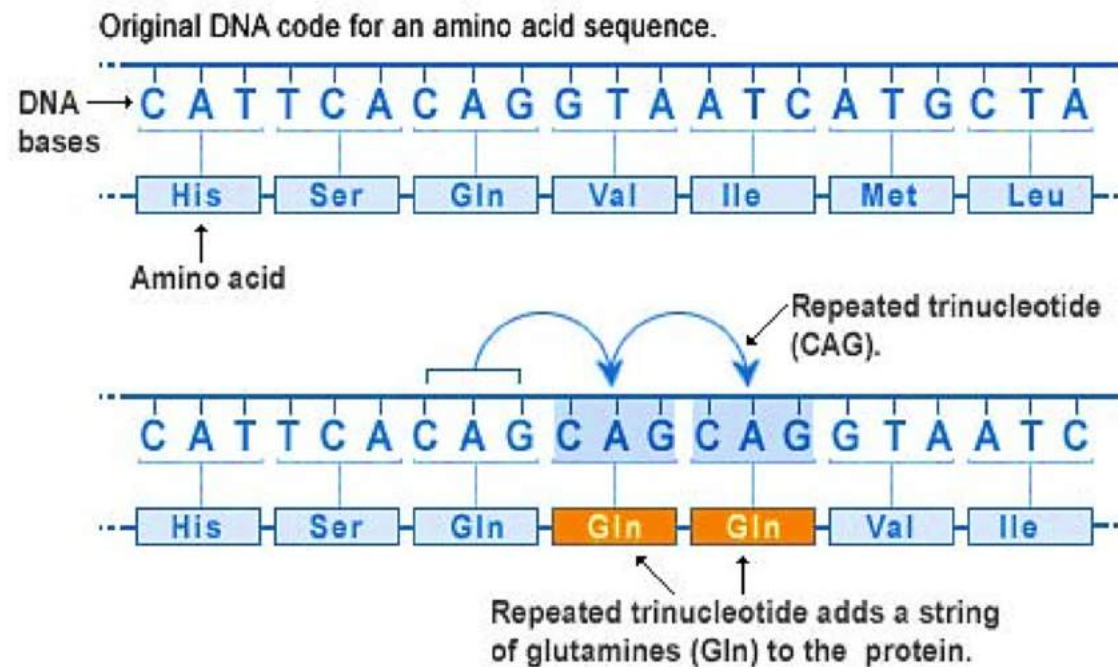
# Mutação *frameshift*

Frameshift mutation



## Expansão de nucleotídeos

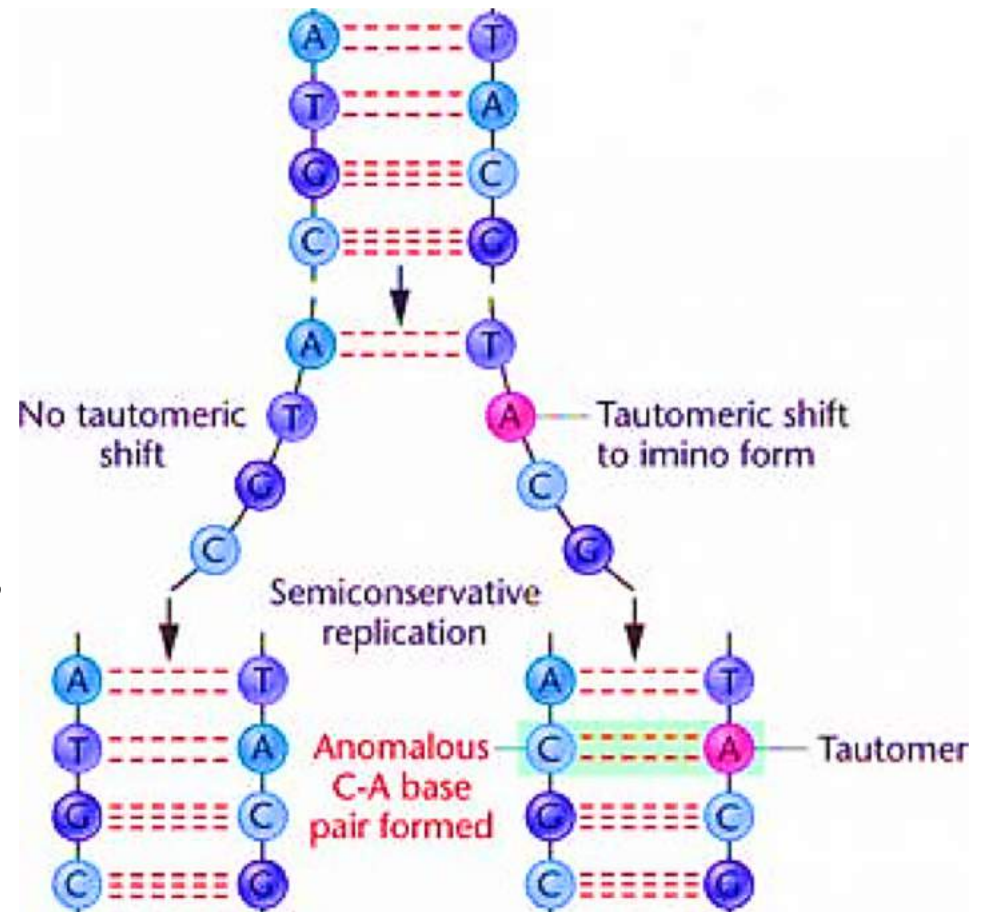
### Repeat expansion mutation



# Mutações espontâneas

- **Tautomerismo:**

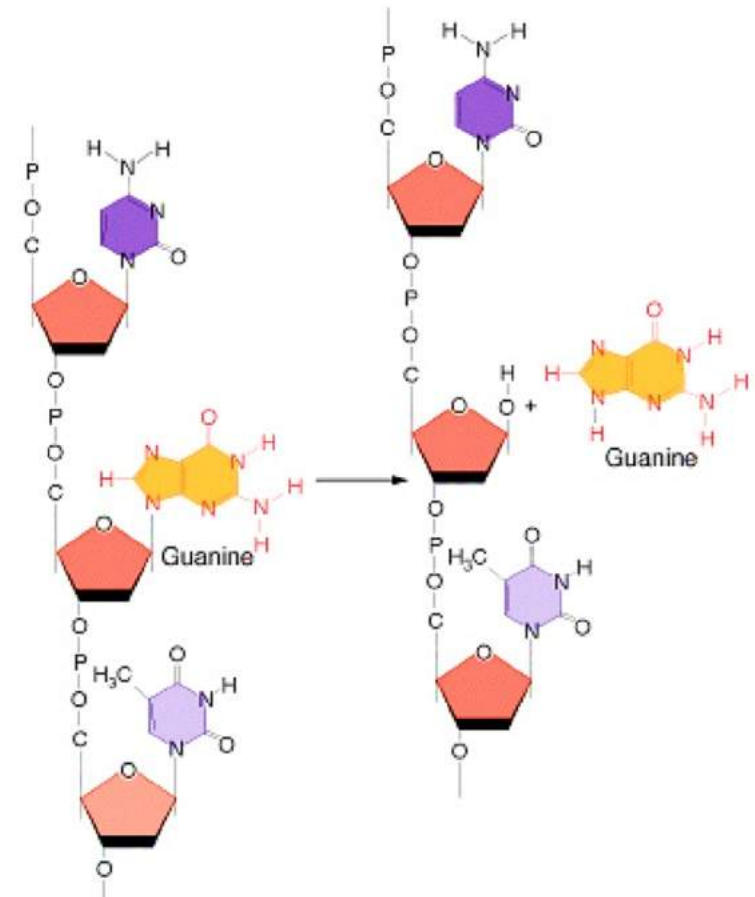
- Alteração reversível do hidrogênio
- Altera base para isômero diferente
- Pode causar pareamentos indevidos: T-G ou C-A



# Mutações espontâneas

- **Depuração:**

- Remoção de A ou G do nucleotídeo
- Nucleotídeo desapareado
- Replicação: inserção de qualquer base na fita complementar
- Substituição de base

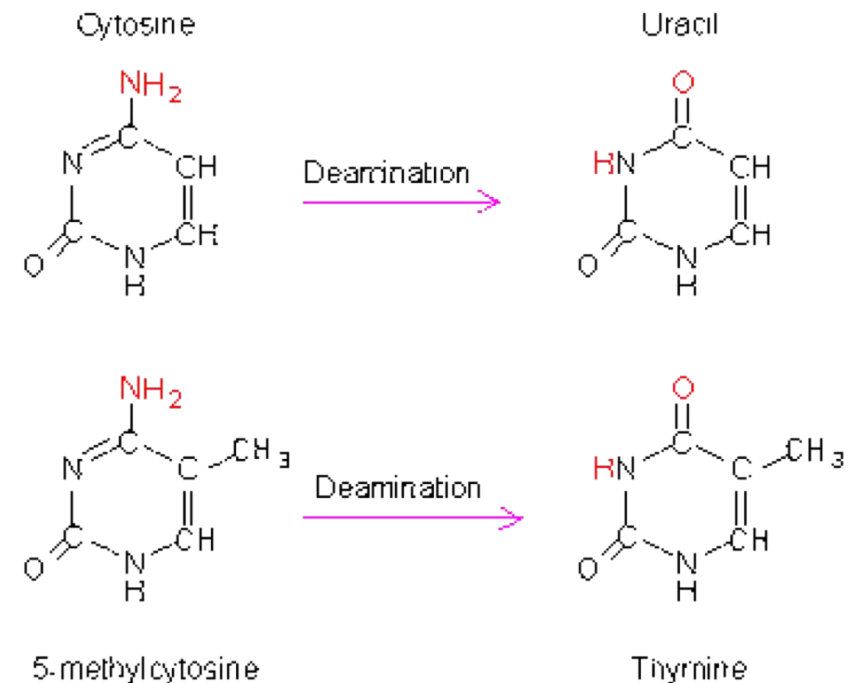




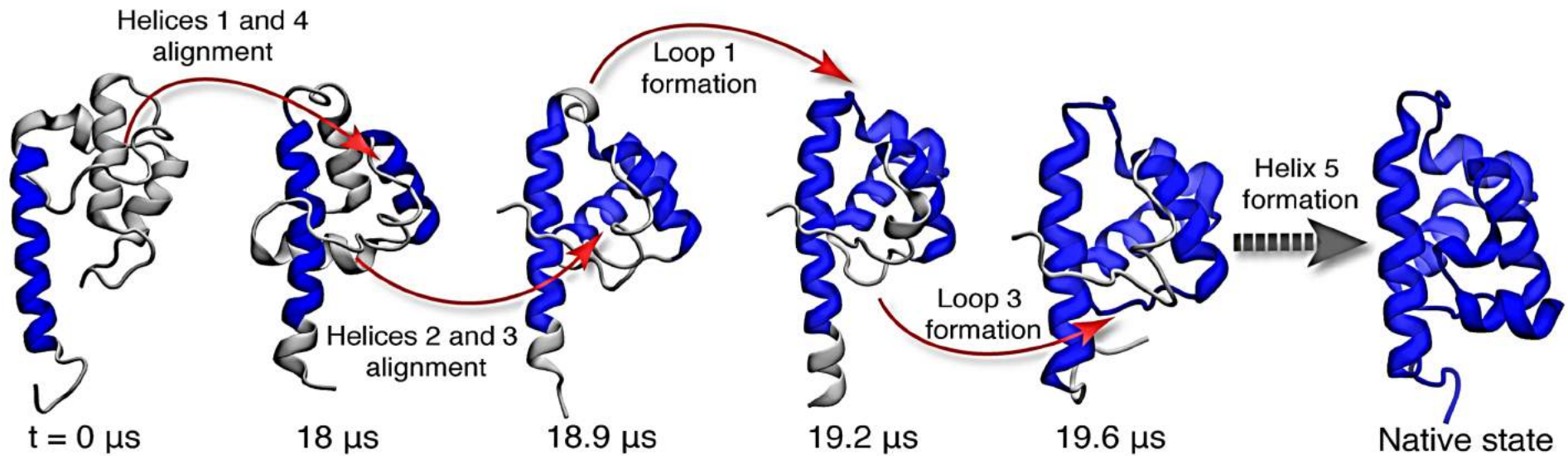
## Mutações espontâneas

- **Deaminação:**

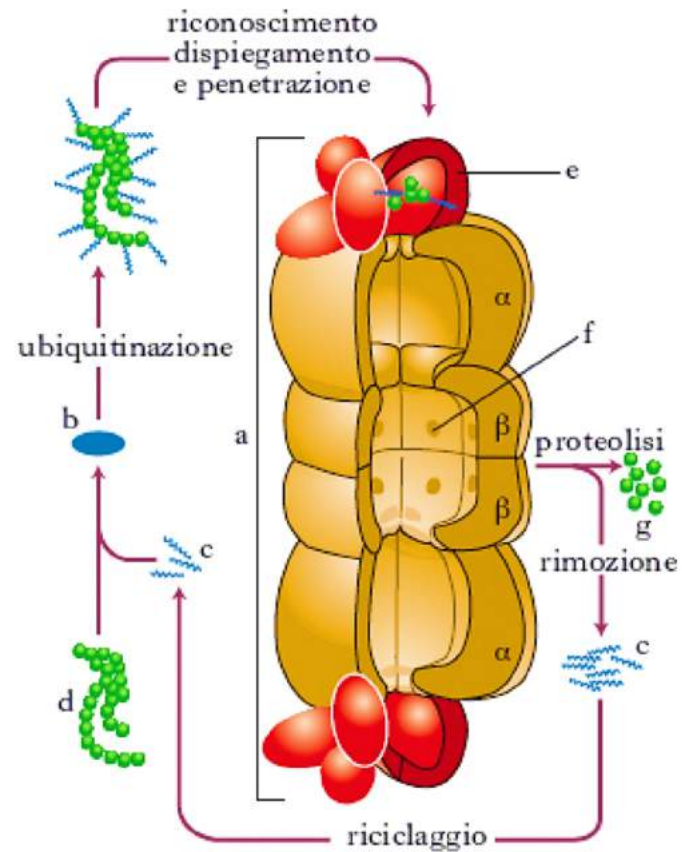
- Remoção de grupo amino da citosina, produzindo uracila (C-U)
- Replicação: uracila é pareada com T, levando a substituição (C-G para C-A)



## Quais as consequências moleculares das mutações?

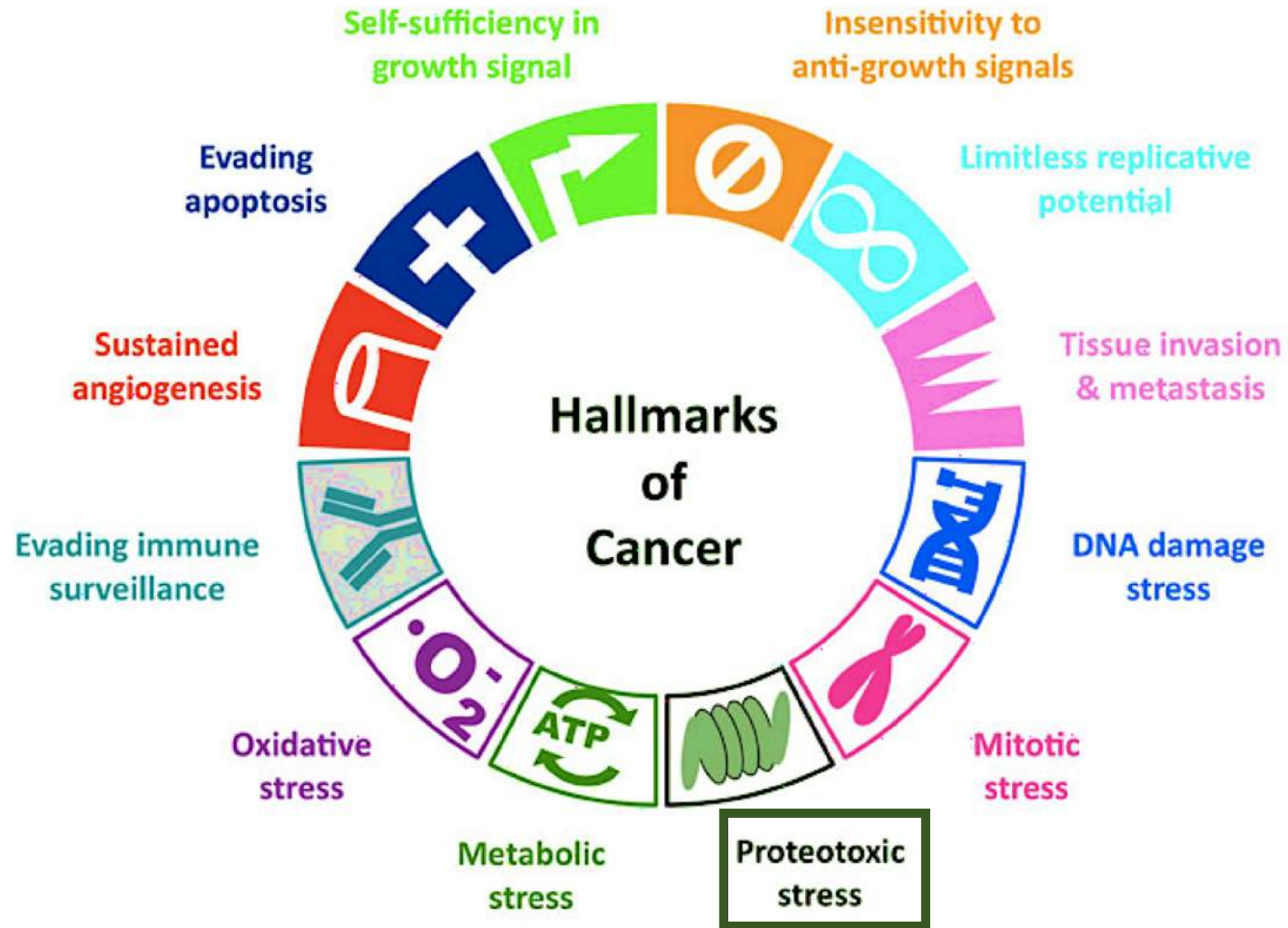


# Degradação proteassômica



Fonte: <http://www.treccani.it/enciclopedia/proteosoma/>

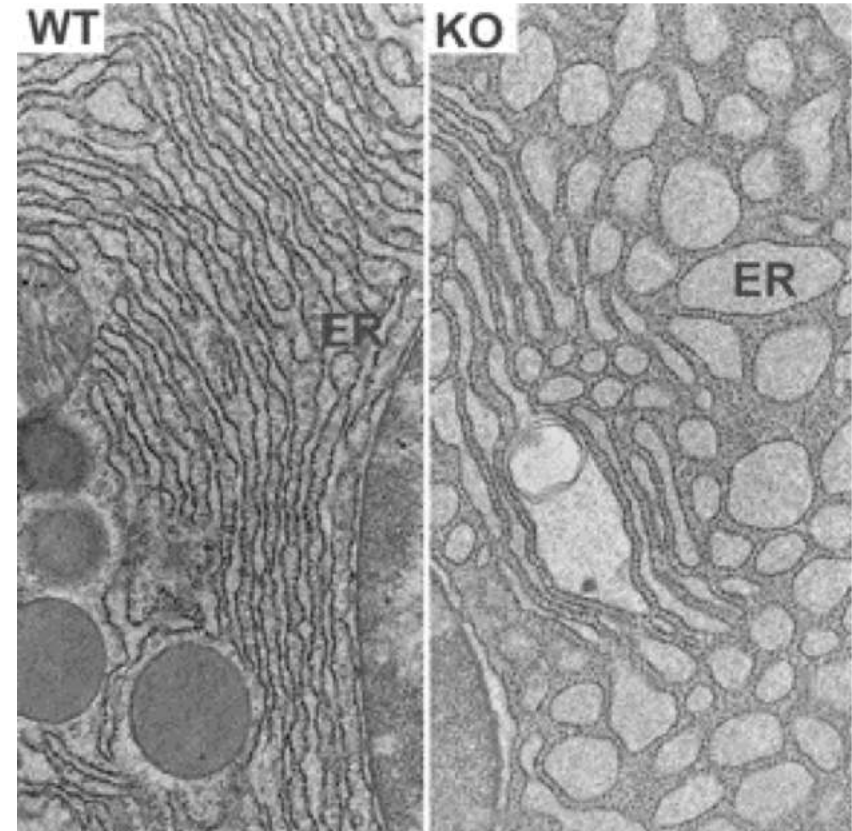
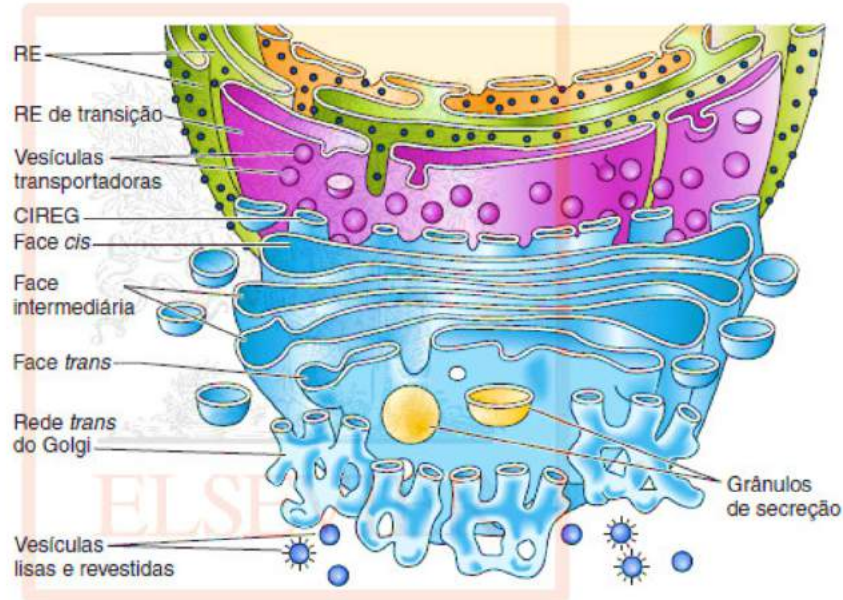
# Biologia Molecular do Câncer



# Estresse de retículo endoplasmático



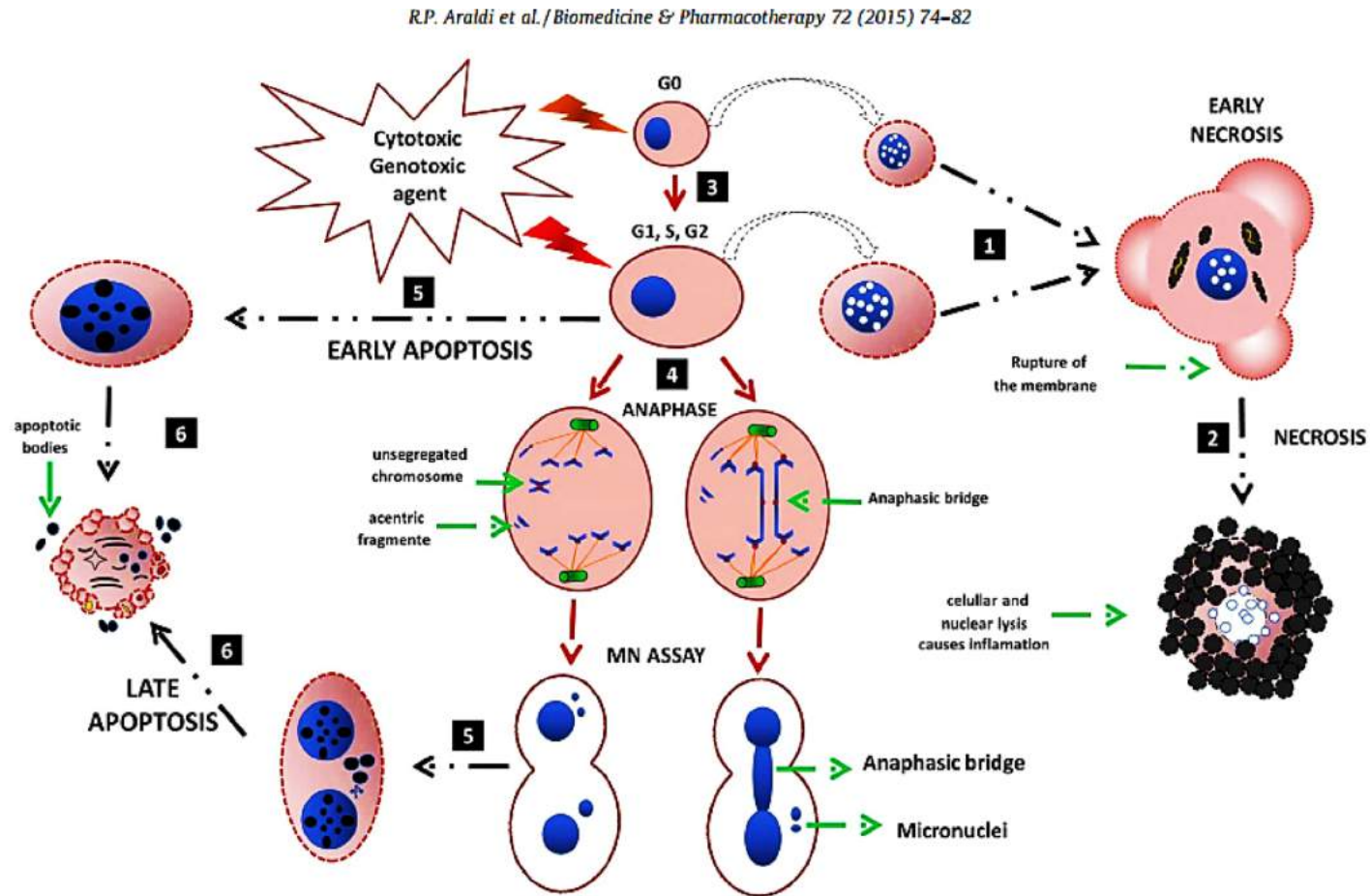
HISTOLOGIA ESSENCIAL -  
Gartner & Hiatt  
ISBN: 9788535244649  
Elsevier Editora





# Biologia Molecular do Câncer

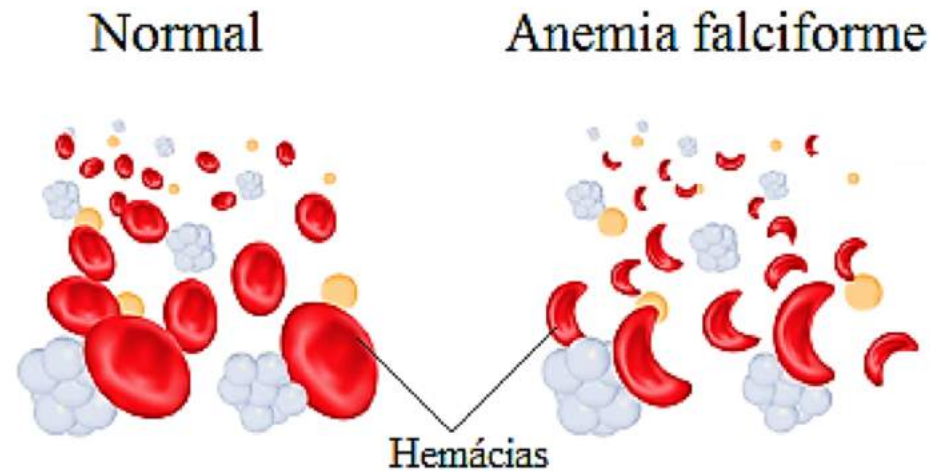
## Quais as consequências citopatológicas das mutações?





## Para refletirmos...

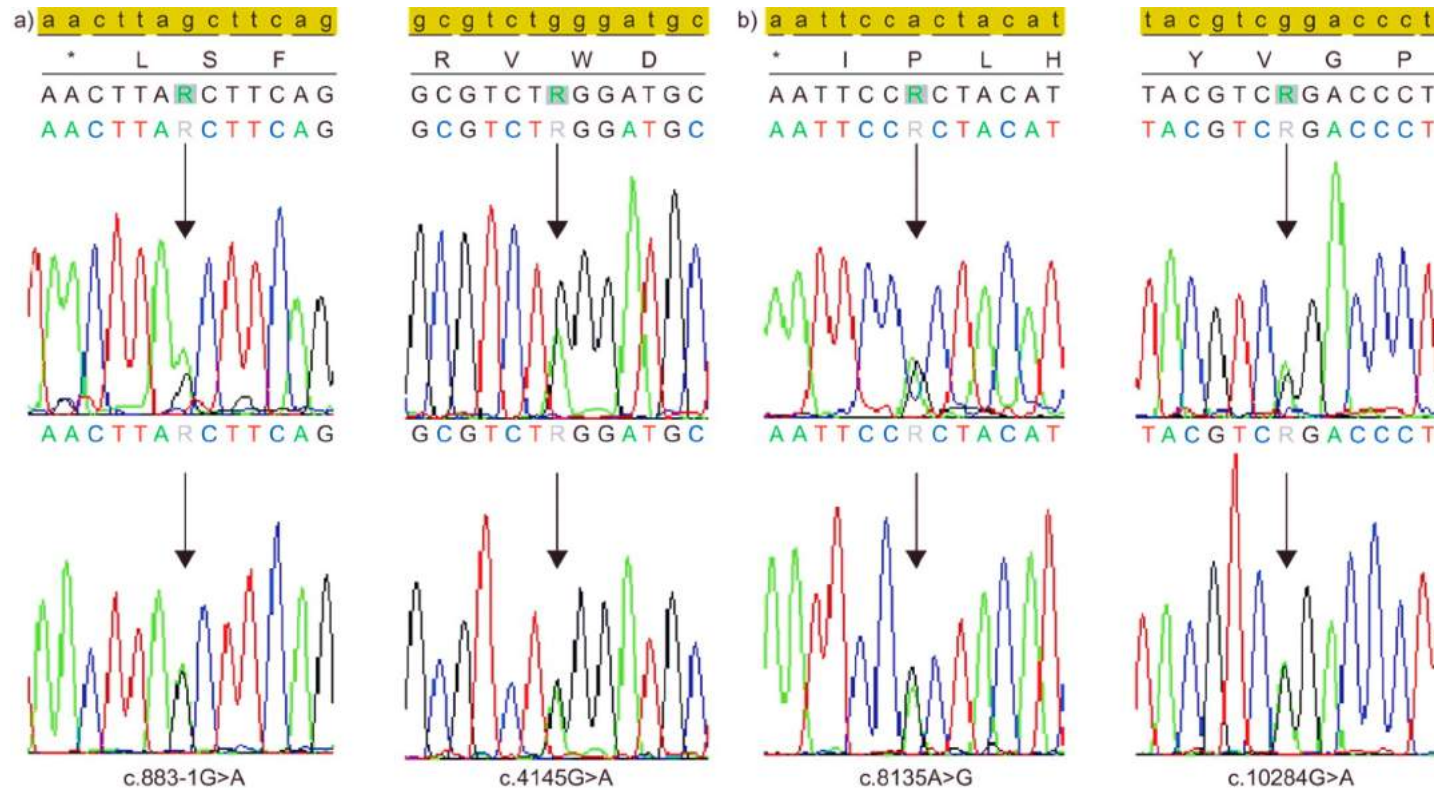
- Mutações em íntrons podem causar consequências clínicas?
- Toda mutação é deletéria?
- Mutação HbS (anemia falciforme) e prevenção da malária



# Ensaaios de mutagênese aplicados à toxicologia

- *The Guideline S2 (R1) on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use:*
  - **ANVISA** (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)
  - FDA (*Food and Drug Administration*)
  - EMA (*European Medicines Agency*)
- Biomonitoramento:
  - Pacientes submetidos a quimioterapia
  - Evolução neoplasias
  - Diagnóstico diferencial de carcinoma cervical: TMN integrado ao exame de Papanicolau (HPV)

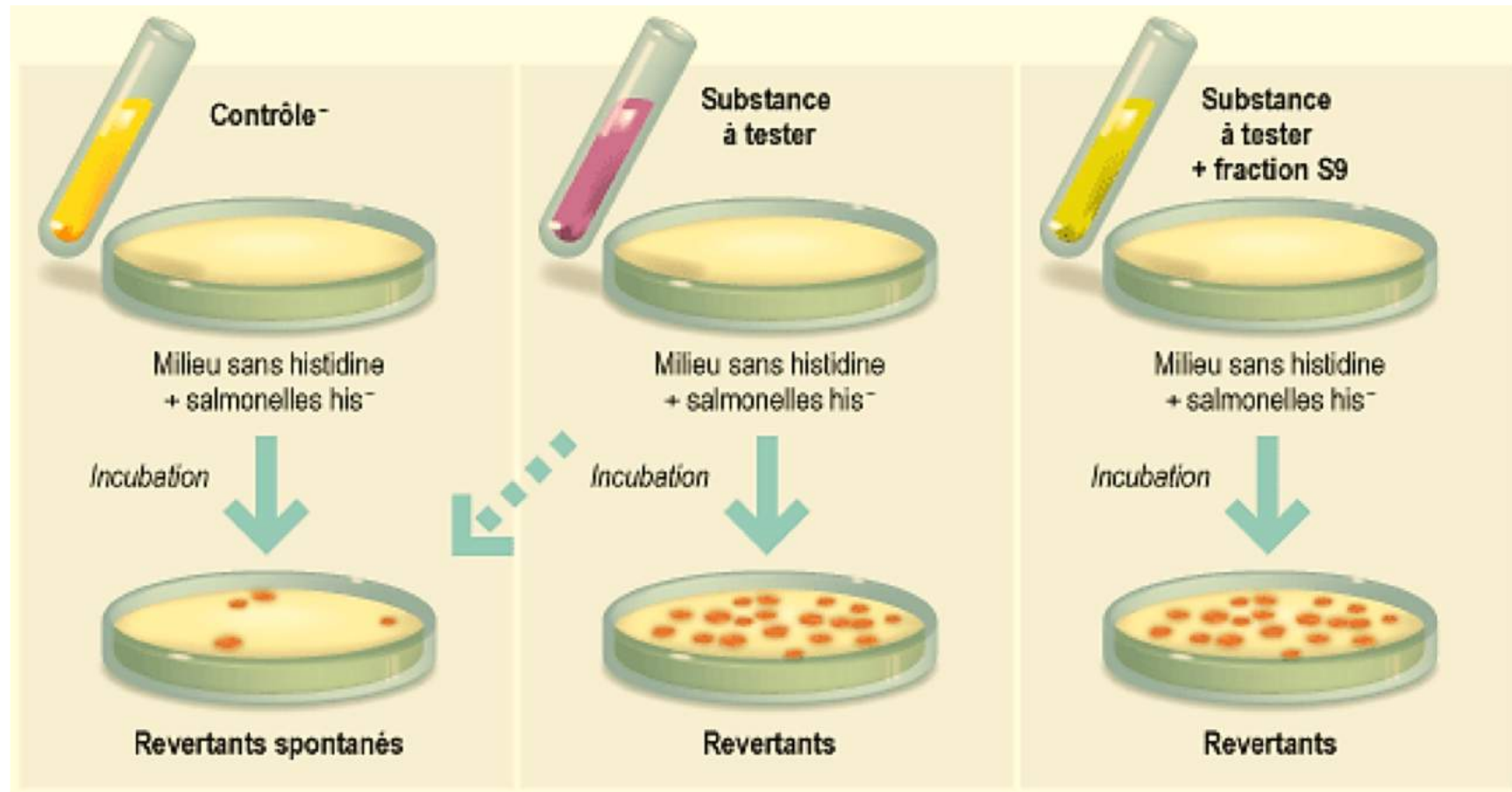
# Como identificar mutações gênicas?



## Teste de AMES

- Desenvolvido em 1971: Dr. Bruce Ames (Universidade da Califórnia)
- Emprega linhagens auxotróficas de *Salmonella typhimurium* (TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535 e TA1537) - **risco biológico**
- Linhagens possuem mutações no *operon* da histidina (*his-*)
  - **Mutação *rfa***: perda de LPS, facilitando internalização da droga-teste
  - **Deleção *uvrB***: aumenta a susceptibilidade à mutação, pois produto do gene *uvrB* participa do reparo por excisão
  - **Plasmídeo pKM01**: contém gene *mucAB*, que aumenta o número de mutações espontâneas

# Biologia Molecular do Câncer

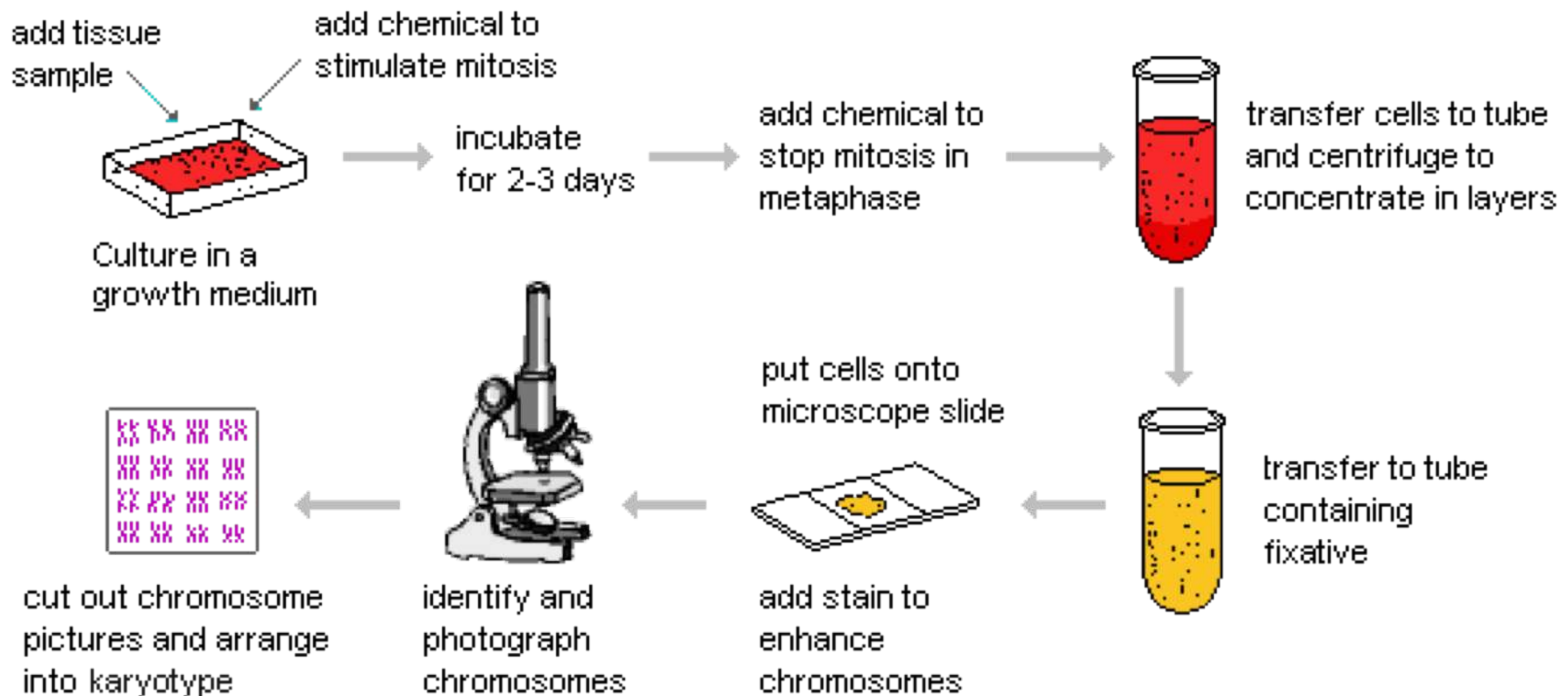


## Teste de aberrações cromossômicas

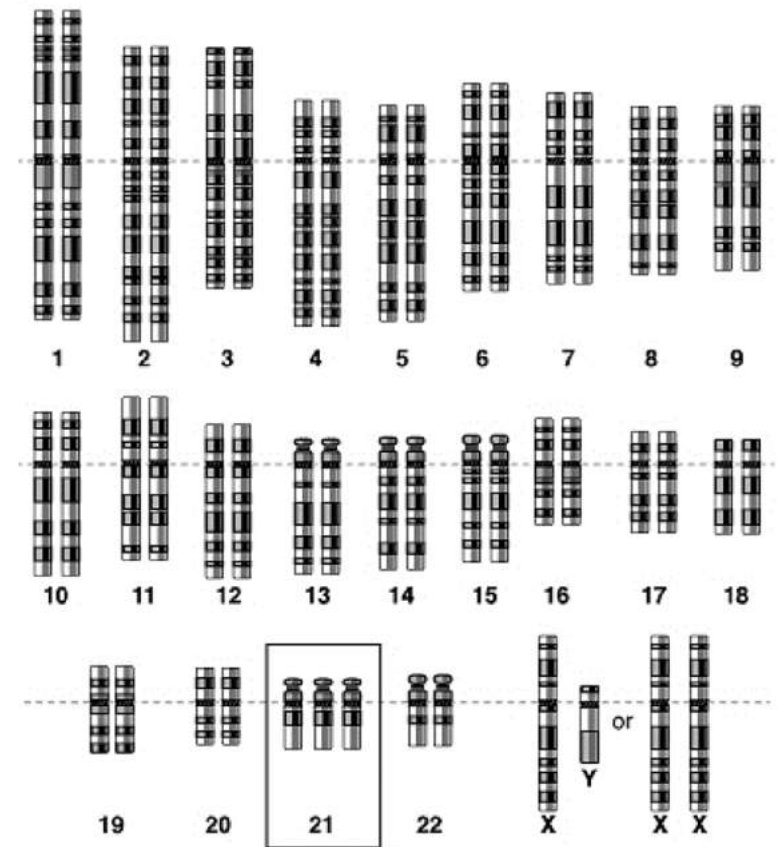
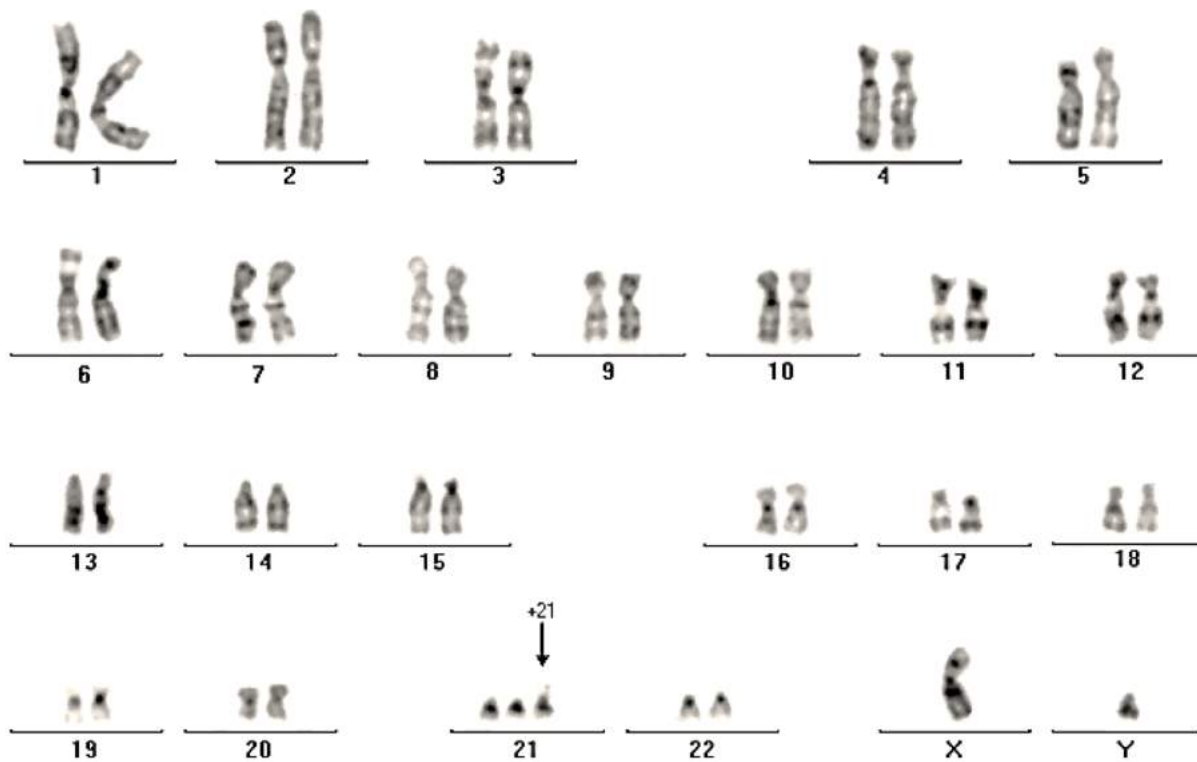
- Extensivamente empregado no passado
- Método simples, porém laborioso
- Vantagem: **permite detectar *locus* mutado**
- Desvantagens: exige preparação citogenética



# Preparação citogenética

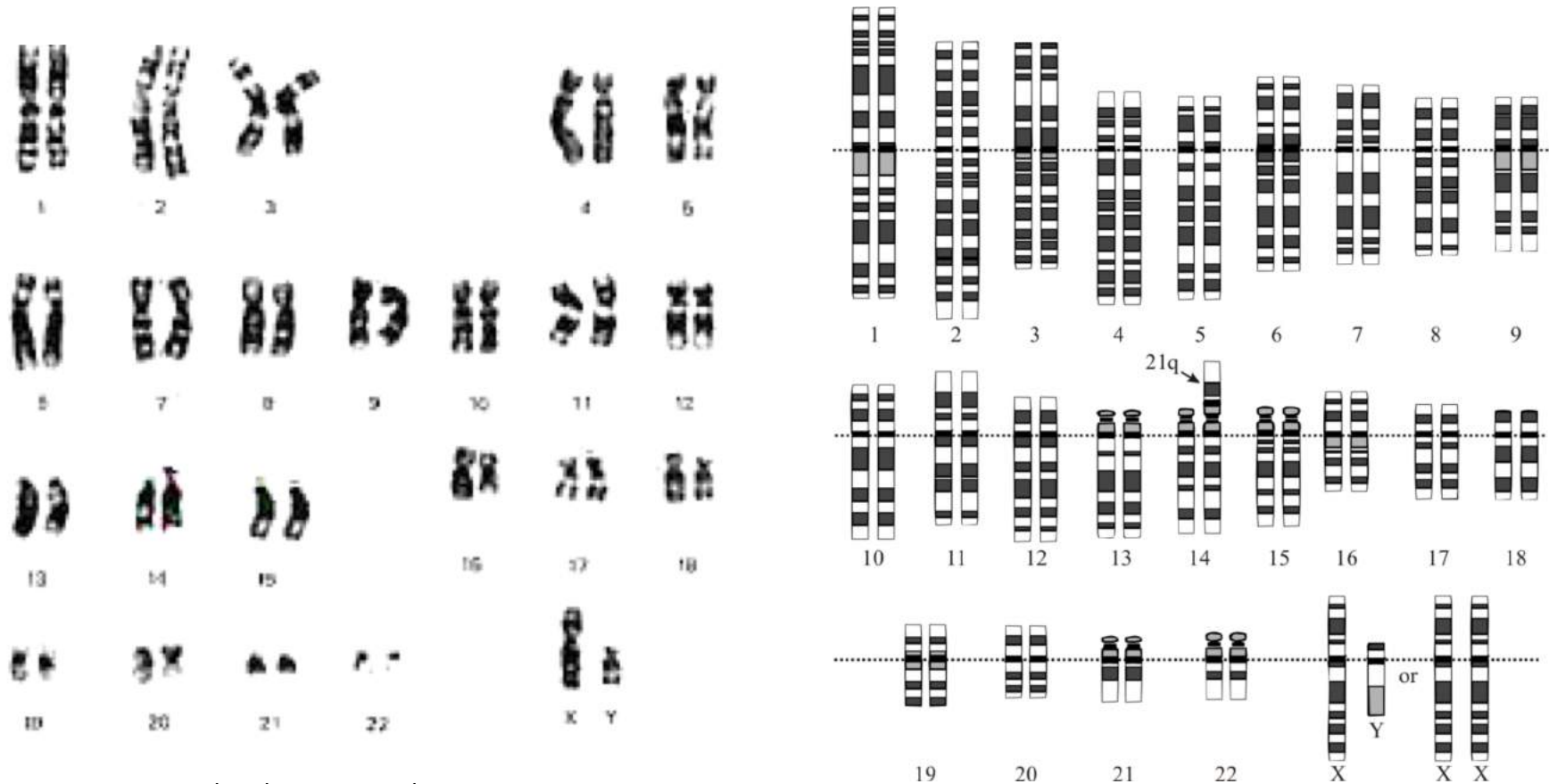


# Análise de cariótipo - Síndrome de Down



Fonte: <http://www.chromoscitogenetica.com.br/down.html>

# Síndrome de Down – translocação robertsoniana





# Potencial mutagênico do papilomavírus (BPV)



Hindawi Publishing Corporation  
ISRN Oncology  
Volume 2013, Article ID 910849, 8 pages  
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/910849>



## *Research Article*

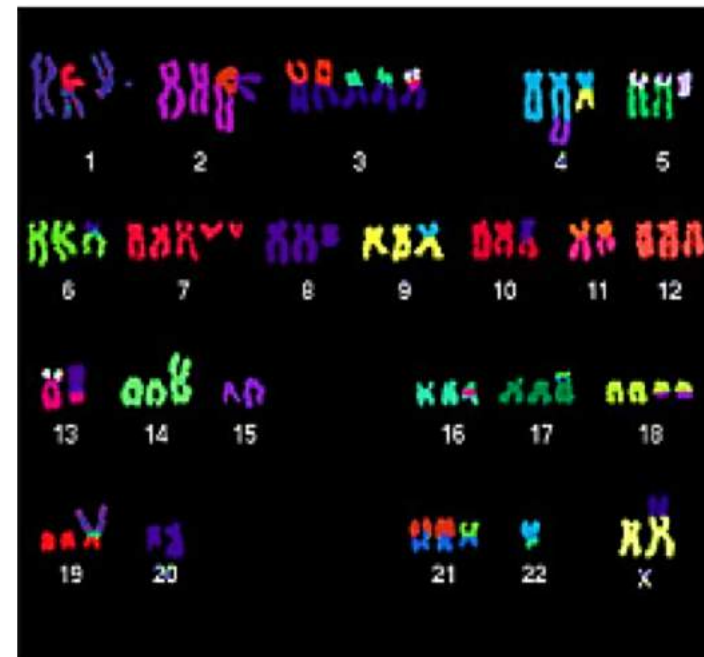
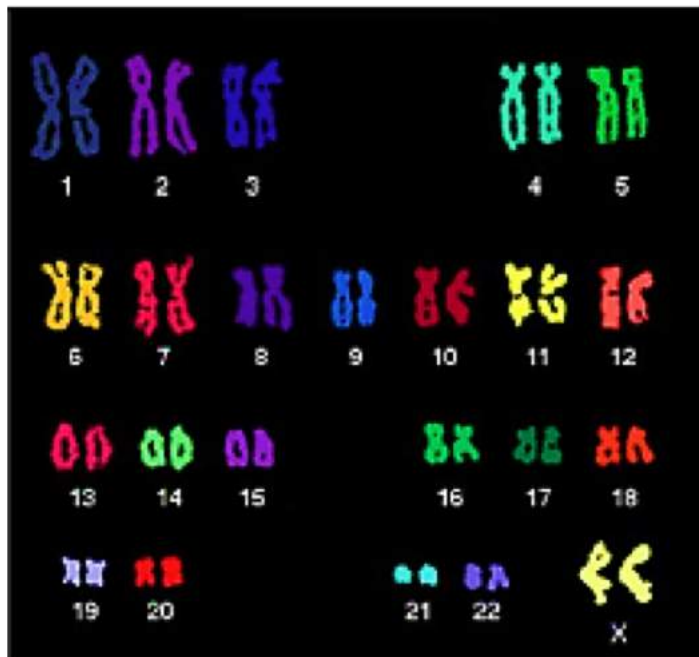
### **Chromosome Aberrations in Cells Infected with Bovine Papillomavirus: Comparing Cutaneous Papilloma, Esophagus Papilloma, and Urinary Bladder Lesion Cells**

**S. R. C. Campos,<sup>1</sup> T. C. Melo,<sup>1,2</sup> S. Assaf,<sup>1</sup> R. P. Araldi,<sup>1,3</sup> J. Mazzuchelli-de-Souza,<sup>1,3</sup> M. P. Sircili,<sup>1,3</sup> R. F. Carvalho,<sup>1,3</sup> F. Roperto,<sup>4</sup> W. Beçak,<sup>1,5</sup> and R. C. Stocco<sup>1,3</sup>**

(g)

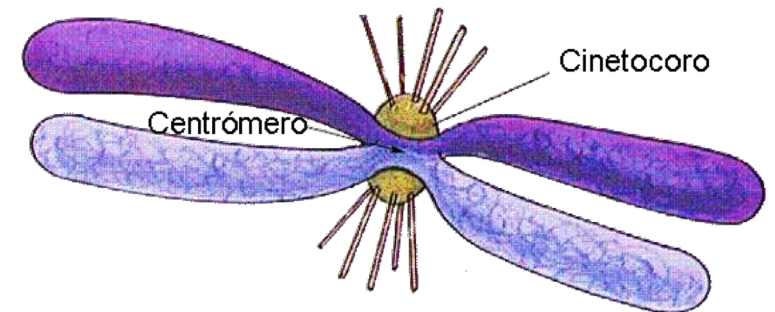
(h)

# Pintura cromossômica



## Teste do micronúcleo

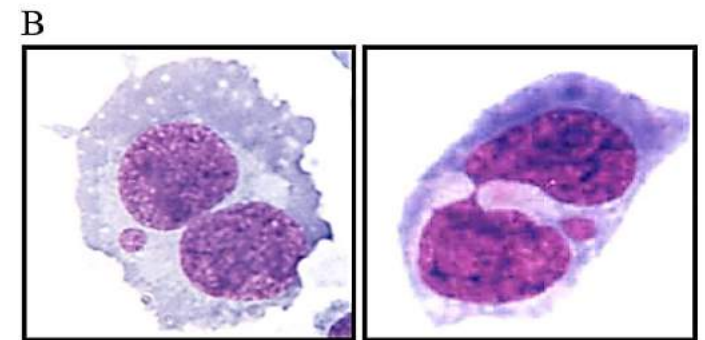
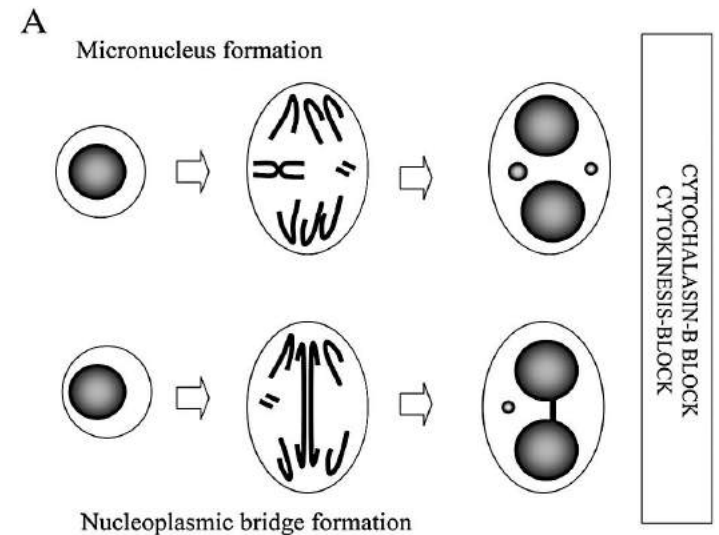
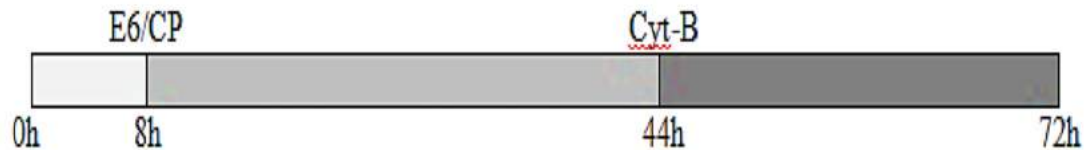
- Permite avaliar quebras no DNA (clastogênese) e aneugênese
- Método pode ser realizado *in vitro* ou *in vivo*
- Micronúcleos:
  - Corpúsculo de Howell-Jolly (termo introduzido em 1951)
  - Fragmentos acêntricos são excluídos do núcleo principal nos estágios tardios da anáfase
  - Fragmentos cromossômicos (clastogênese)
  - Cromossomos inteiros (aneugênese) – detecção de proteínas do cinetócoro





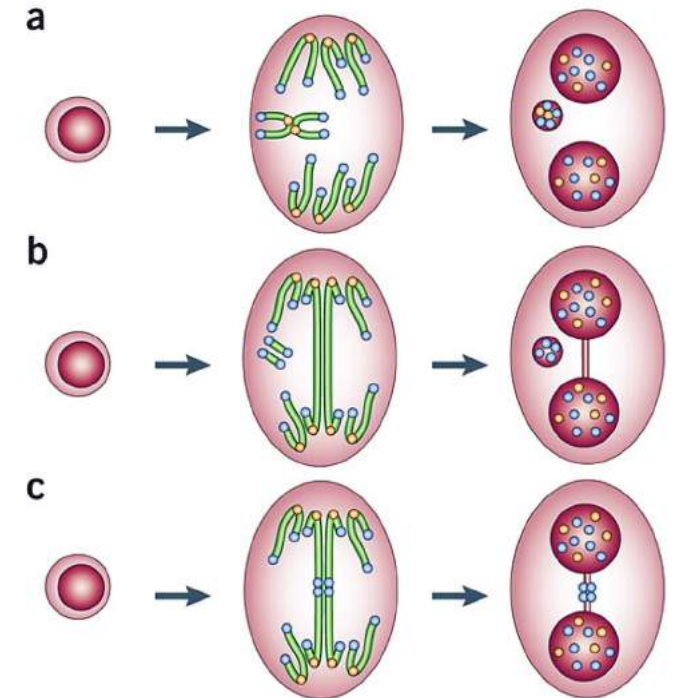
# Teste do MN com bloqueio de citocinese

- Requer cultura de linfócitos (72 horas)
- Requer tratamento com citocalasina B
- Não requer uso de animais (Lei Arouca)



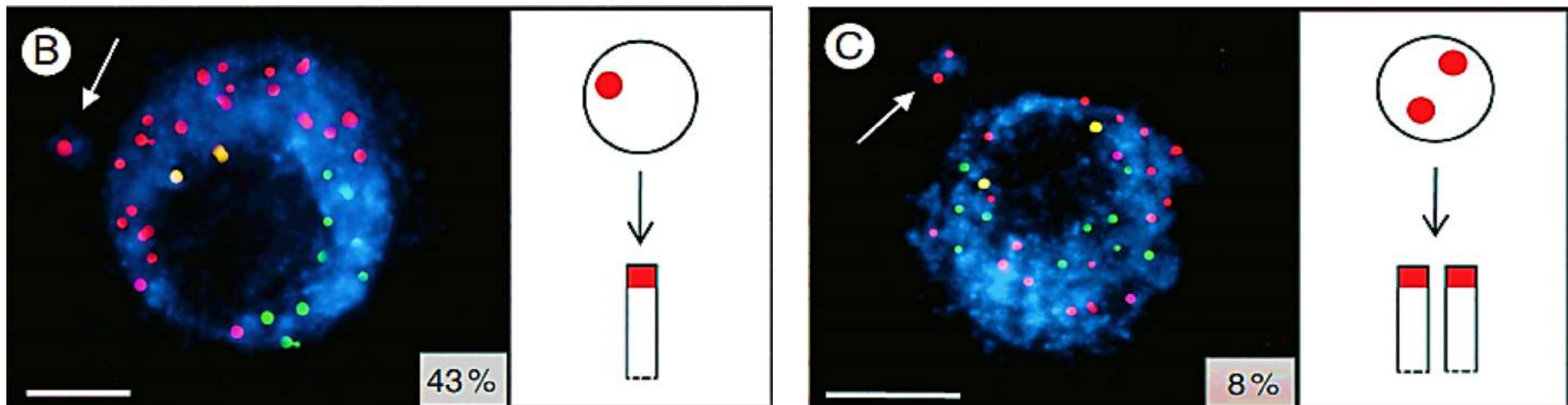
## Biologia Molecular do Câncer

- 1959: MN foi proposto como marcador de danos citogenéticos
- 1970: Boller & Schimid desenvolvem o teste do micronúcleo em eritrócito policromático (*in vivo*)
- 1976: Countryman & Hedle aperfeiçoaram o método, desenvolvendo o Teste do micronúcleo em linfócitos binucleados (*in vitro*)
- Vantagens:
  - Método simples e barato
  - Não requer análise de cariótipo
  - Elevado poder estatístico: contagem de 1.000 a 2.000 células
  - padronização do método: consórcio Roche, Novartis, Rhône-Poulenc Rorer e Biologie Servie - ***International Workshop on Genotoxicity Test Procedures***

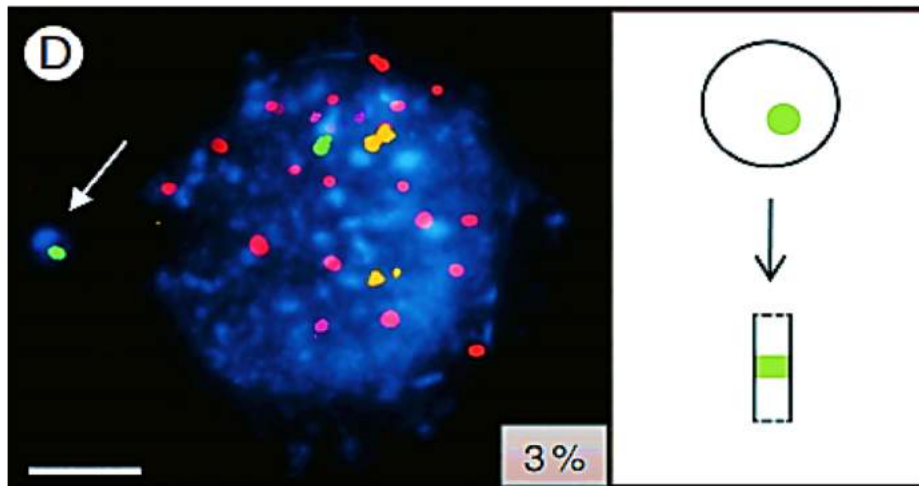


# Teste do micronúcleo com FISH

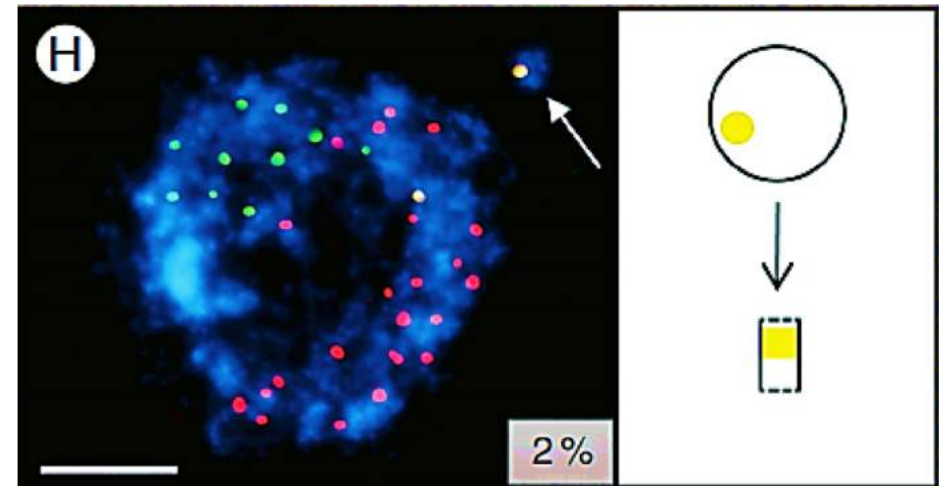
## Sonda telomérica



## Sonda centromérica

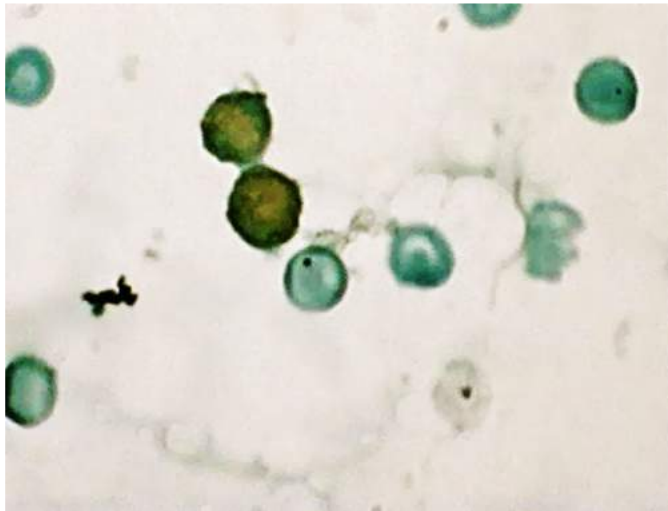


## Sonda intersticial



# Teste de MN em eritrócitos policromáticos

- Requer uso de camundongos *Swiss albino*
- Grupos de 5 camundongos: controle negativo, controle positivo (ciclofosfamida 50 mg/kg) e experimental
- Eutanásia: deslocamento cervical após 48 horas da administração da droga-teste







# Potencial mutagênico de anabolizantes

## ANÁLISE DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DOS ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS (EAA) E DA L-CARNITINA MEDIANTE O TESTE DO MICRONÚCLEO EM ERITRÓCITOS POLICROMÁTICOS



ARTIGO ORIGINAL

*ANALYSIS OF MUTAGENIC POTENTIAL OF THE ANABOLIC ANDROGENIC STEROIDS (AAS) AND L-CARNITINE BY THE MICRONUCLEUS TEST IN POLYCHROMATIC ERYTHROCYTES*

*ANÁLISIS DEL POTENCIAL MUTAGÉNICO DE LOS ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÉNICOS (EAA) Y DE LA L-CARNITINA MEDIANTE LA PRUEBA DEL MICRONÚCLEO EN ERITROCITOS POLICROMÁTICOS*

Rodrigo Pinheiro Araldi (Biólogo)<sup>1</sup>

Décio Gomes de Oliveira  
(Biólogo)<sup>2</sup>

Douglas Fernandes da Silva  
(Biólogo)<sup>1</sup>

Thais Biude Mendes (Biólogo)<sup>1</sup>

Edislane Barreiros de Souza  
(Biólogo)<sup>1</sup>

### RESUMO

**Introdução:** Os esteroides anabólicos androgênicos são usados por pessoas que desejam aumentar sua massa muscular para obter um melhor desempenho nos esportes ou melhorar a aparência física. Os EAA são derivados sintéticos da testosterona, capazes de promover a hipertrofia das fibras musculares, aumentando a síntese proteica intracelular. A L-carnitina é um suplemento alimentar empregado para aumentar a produção energética por meio da oxidação de ácidos graxos. Embora haja trabalhos mostrando as propriedades fisiológicas dessas drogas, há poucos estudos sobre o potencial mutagênico das mesmas. **Objetivos:** Este trabalho avaliou a clastogenicidade e genotoxicidade do decanoato de nandrolona, decanoato de testosterona e da





# TMN para biomonitoramento de HPV



*Genetics and Molecular Biology*, 37, 2, 360-363 (2014)

Copyright © 2014, Sociedade Brasileira de Genética. Printed in Brazil

[www.sbg.org.br](http://www.sbg.org.br)

Research Article

## Association between human papillomavirus (HPV) DNA and micronuclei in normal cervical cytology

Ana Paula Rebelo Cassel<sup>1</sup>, Regina Bones Barcellos<sup>2</sup>, Cláudia Maria Dornelles da Silva<sup>2</sup>,  
Sabrina Esteves de Matos Almeida<sup>2,3</sup> and Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brazil.*

<sup>2</sup>*Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Porto Alegre, RS, Brazil.*

<sup>3</sup>*Instituto da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brazil.*



# Potencial mutagênico da sibutramina



A

Number of micronucleus

## Can *Spirulina maxima* reduce the mutagenic potential of sibutramine?

Figura  
with  
cont...

R.P. Araldi<sup>1,2</sup>, N.P. Santos<sup>3</sup>, T.B. Mendes<sup>4</sup>, L.B. Carvalho<sup>3</sup>, E.T. Ito<sup>3</sup>,  
P.L. de-Sá-Júnior<sup>1</sup> and EB Souza<sup>3</sup>

+

ated  
jative



# Potencial mutagênico da quercetina



## Synergic Associations Between the Bovine Papillomavirus Infection and Alimentary Cofactors

**R Franco de Cravalho**, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

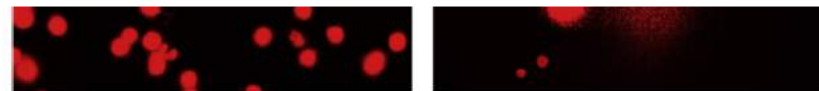
**RP Araldi**, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil; and Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

**TA Nascimento de Lima and DG Modolo**, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

**J Mazzuchelli de Souza**, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil; and Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

**W Beçak and R de Cassia Stocco**, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.



**Figure 6** Molecular identification of bovine papillomavirus-2 DNA sequences in cells collected from amniotic liquid of cow presenting esophageal carcinoma.

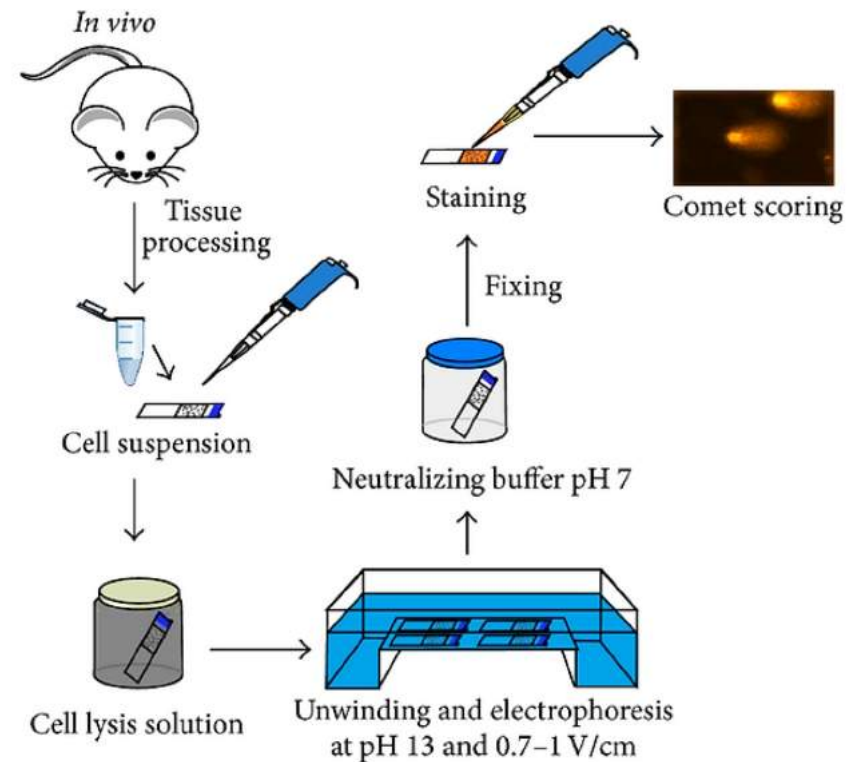
## Ensaio cometa

- *Single cell gel electrophoresis* (SCGE)
- Introduzido por Östling & Johanson (1984):  
detecção de danos induzidos por radiação
- método empregado para:
  - Biomonitoramento
  - Genética toxicológica
  - Farmacovigilância
  - Ecogenotoxicidade
  - Estudos de reparo de DNA
  - Pode ser realizado em *Allum cepa*, *Aspergillus ssp.*,  
Zebrafish



# Biologia Molecular do Câncer

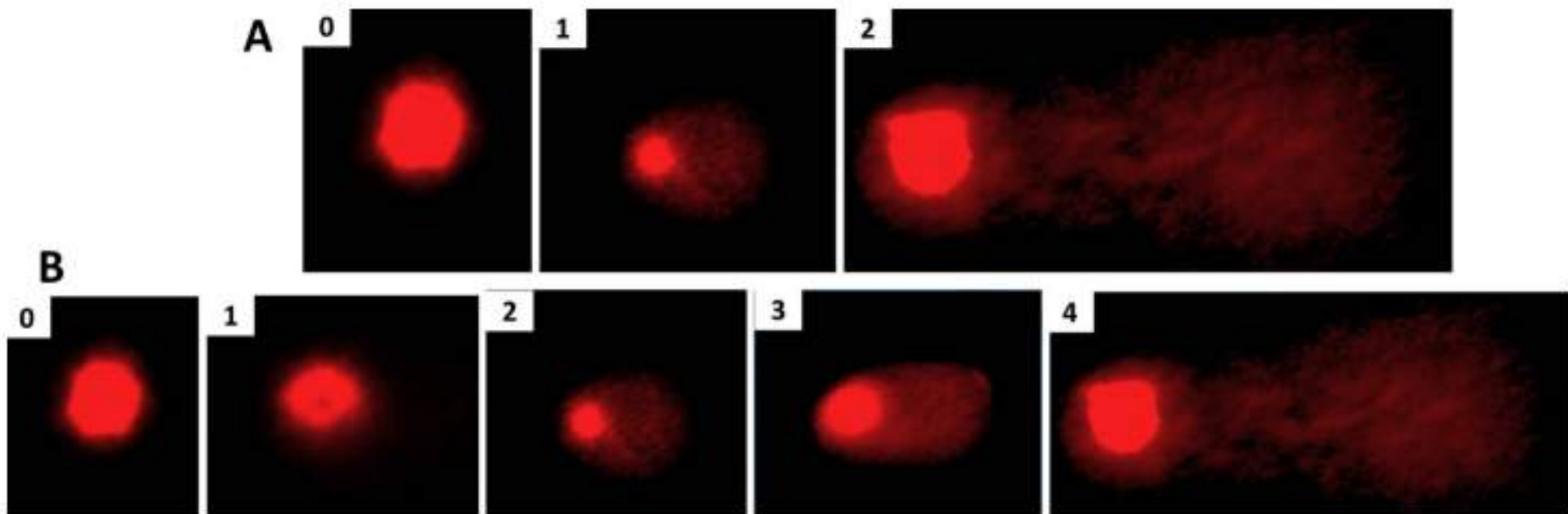
- Vantagens:
  - Simples e rápido (menos de 24 h)
  - **Elevada sensibilidade**
  - Baixo custo
  - **Permite avaliar toxicidade em sítios de absorção, metabolização e excreção**
- Pradronização: *International Workshop on Genotoxicity Procedures*
- consórcio multinacional de validação do EC:
  - Testadas 838 drogas
  - 56,3% mostraram potencial genotóxico



Fonte: <http://focusnews.co/comet-assay-diagram.html>

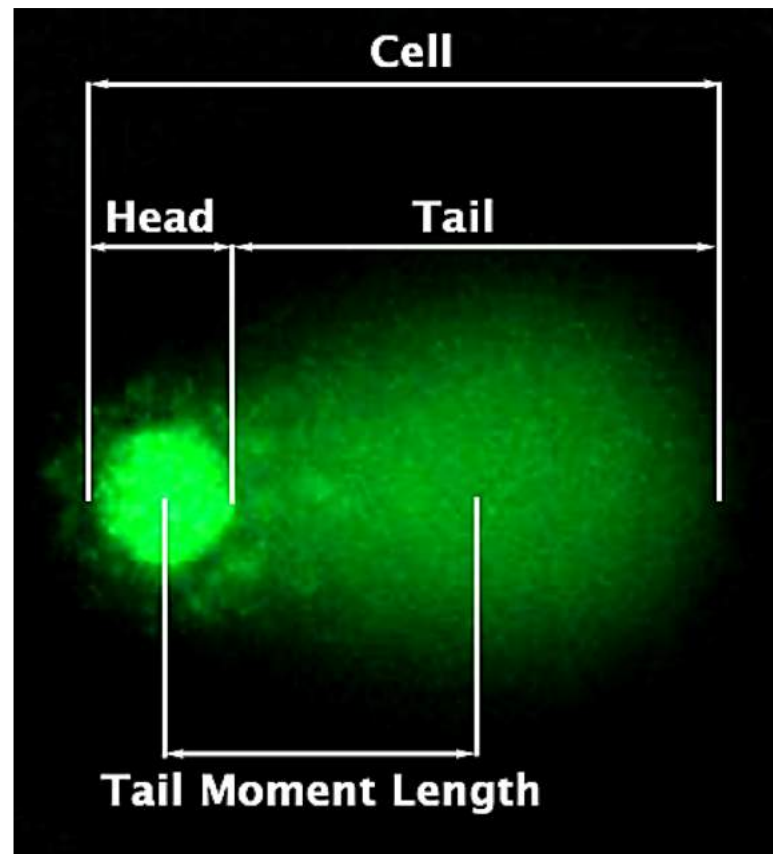


# Classificação dos nucleóides

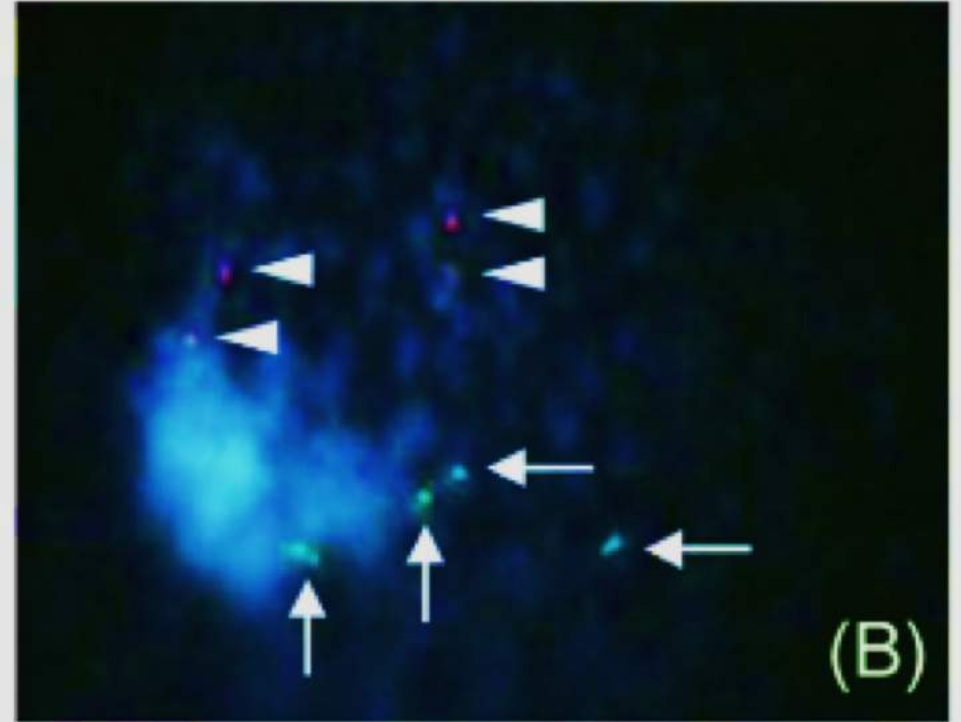
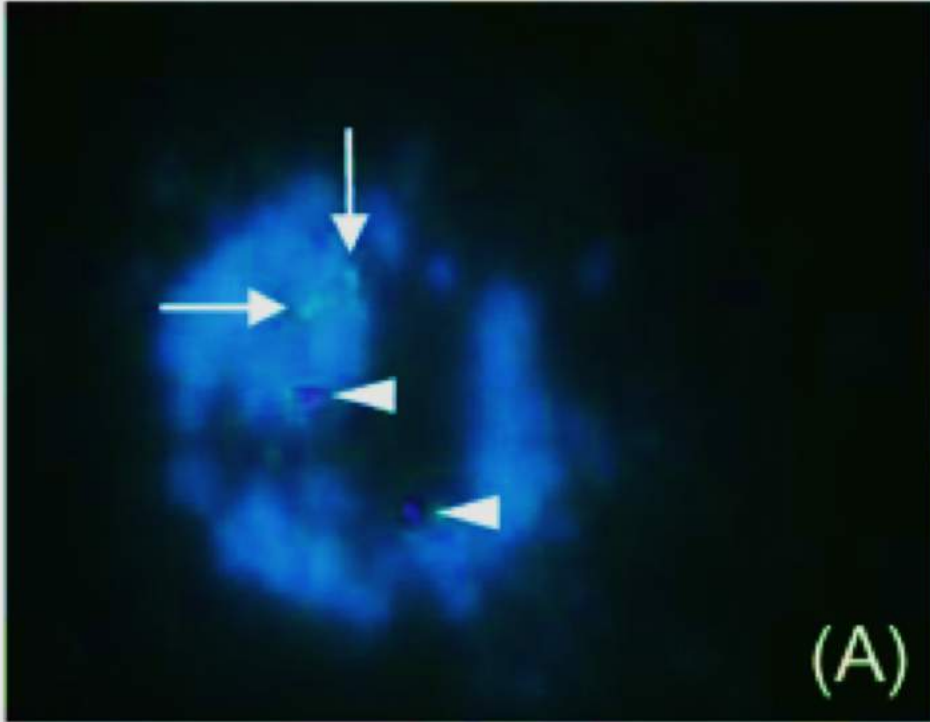




# Análise automatizada

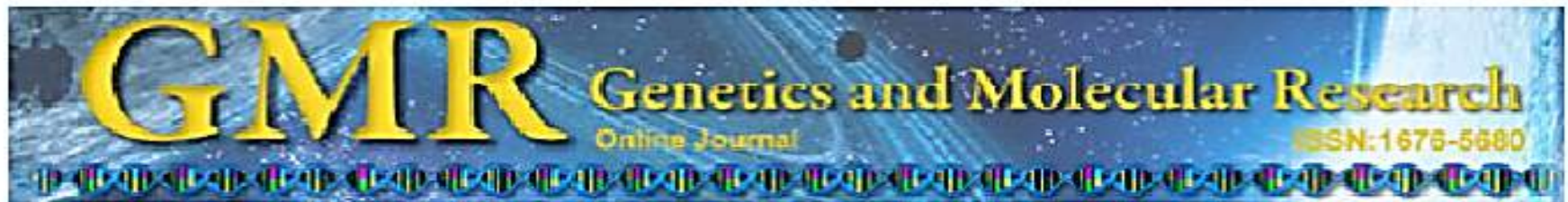


*Comet-FISH*





# Potencial mutagênico de *Pholia magra*



**Mutagenic potential of *Cordia ecalyculata* alone and in association with *Spirulina maxima* for their evaluation as candidate anti-obesity drugs**

R.P. Araldi<sup>1,2</sup>, B.M. Rechiutti<sup>1</sup>, T.B. Mendes<sup>1,3</sup>, E.T. Ito<sup>1</sup> and E.B. Souza<sup>1</sup>





# Potencial mutagênico do papilomavírus

Hindawi  
BioMed F  
Volume 2  
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/123456>



## *Rese* **Hyperproliferative action of bovine** **Bov.** **papillomavirus: genetic and** **Ana** **histopathological aspects**

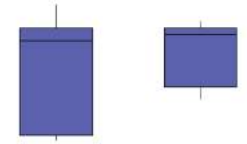
R.P. Araldi<sup>1,2</sup>, T.C. Melo<sup>1,3</sup>, A.C. Neves<sup>1</sup>, D.D. Spadacci-Morena<sup>4</sup>, R.F. Magnelli<sup>1</sup>,  
D.G. Modolo<sup>1</sup>, P.L. de-Sá-Júnior<sup>1</sup>, J. Mazucchelli-de-Souza<sup>1,2</sup>, R.F. Carvalho<sup>1</sup>,  
W. Beçak<sup>1</sup> and R.C. Stocco<sup>1</sup>





# Potencial mutagênico da oncoproteína E6

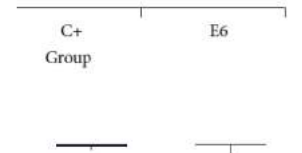
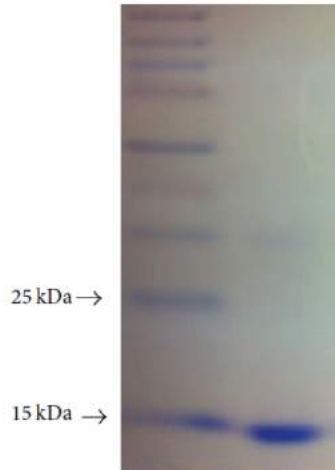
Hindawi Publishing Corporation  
BioMed Research International  
Volume 2015, Article ID 806361, 15 pages  
<http://dx.doi.org/10.1155/2015/806361>



*Research Article*

## Mutagenic Potential of *Bos taurus* Papillomavirus Type 1 E6 Recombinant Protein: First Description

Rodrigo Pinheiro Araldi,<sup>1,2</sup> Jacqueline Mazzuchelli-de-Souza,<sup>1,2</sup>  
Diego Grando Modolo,<sup>1</sup> Edislane Barreiros de Souza,<sup>3</sup> Thatiana Corrêa de Melo,<sup>1</sup>  
Diva Denelle Spadacci-Morena,<sup>4</sup> Roberta Fiusa Magnelli,<sup>1</sup>  
Márcio Augusto Caldas Rocha de Carvalho,<sup>1</sup> Paulo Luis de Sá Júnior,<sup>1</sup>  
Rodrigo Franco de Carvalho,<sup>1</sup> Willy Beçak,<sup>1</sup> and Rita de Cassia Stocco<sup>1</sup>



(c)

(d)



# Potencial mutagênico do eugenol

Phytomedicine 23 (2016) 725–735



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Phytomedicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/phymed](http://www.elsevier.com/locate/phymed)



Apoptotic effect of eugenol involves G2/M phase abrogation accompanied by mitochondrial damage and clastogenic effect on cancer cell *in vitro*



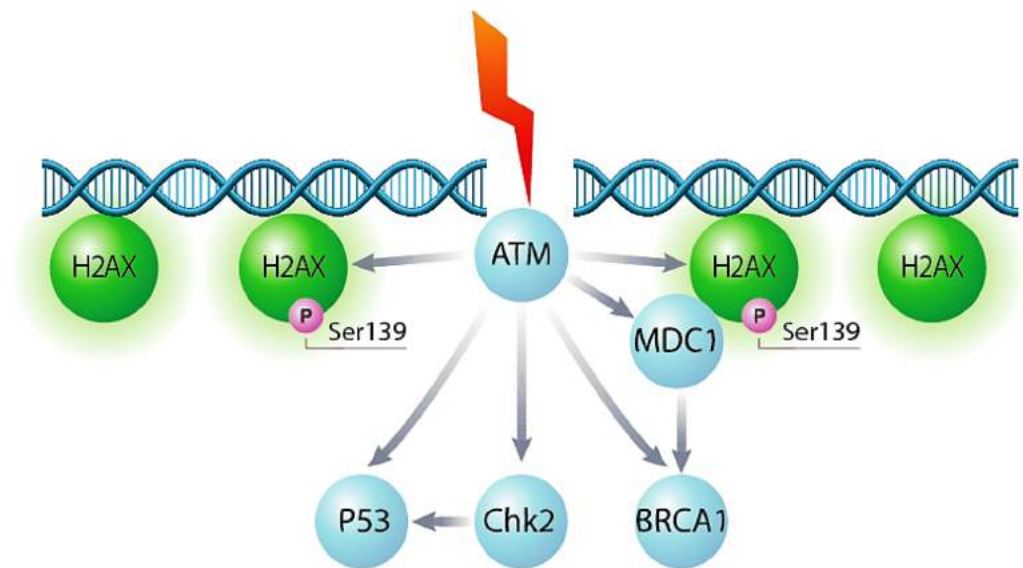
Paulo Luiz de Sá Júnior<sup>a,\*</sup>, Diana Aparecida Dias Câmara<sup>a,b</sup>, André Santos Costa<sup>a</sup>, Jorge Luis Maria Ruiz<sup>c</sup>, Débora Levy<sup>c</sup>, Ricardo Alexandre Azevedo<sup>d</sup>, Kerly Fernanda Mesquita Pasqualoto<sup>e</sup>, Camila Fávero de Oliveira<sup>a</sup>, Thatiana Corrêa de Melo<sup>a</sup>, Nara Diniz Soares Pessoa<sup>f</sup>, Pâmela Maria Moreira Fonseca<sup>g</sup>, Alexandre Pereira<sup>a</sup>, Rodrigo Pinheiro Araldi<sup>a</sup>, Adilson Kleber Ferreira<sup>d</sup>



# Ensaio de histona $\gamma$ -H2AX

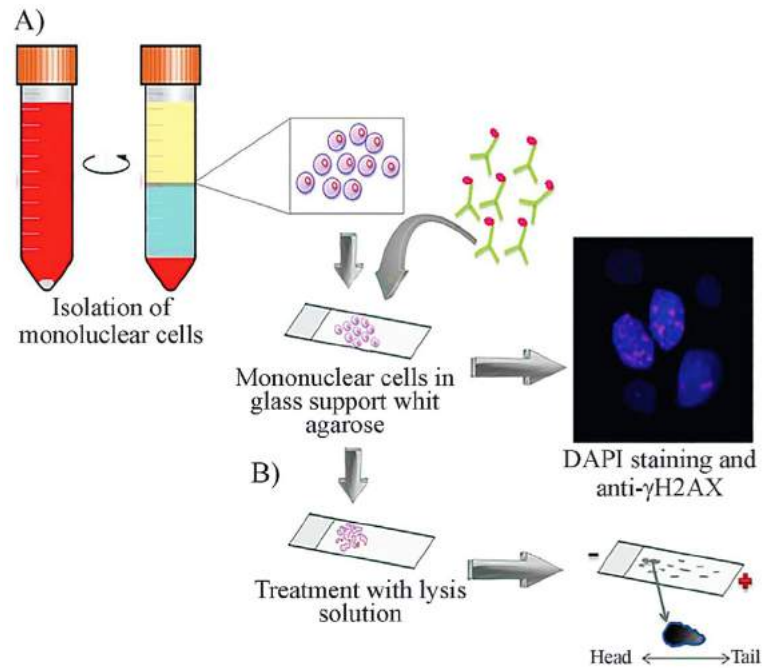
## Histona H2AX

- Variante da histona H2A
- Histona nucleossomal
- Participa do reparo de DSBs
  - Complexo MRN (MRE11-RAD50-NBS1) recruta ATM (quinase)
  - ATM fosforila histona resíduo C-terminal (Ser 139) da histona H2AX
  - Processo ocorre em minutos
  - Histona  $\gamma$ -H2AX atrai MDC1 que é fosforilado por ATM
  - MDC1 serve como arcabouço para BRCA1
  - Número de histonas  $\gamma$ -H2AX é proporcional ao número de DSBs

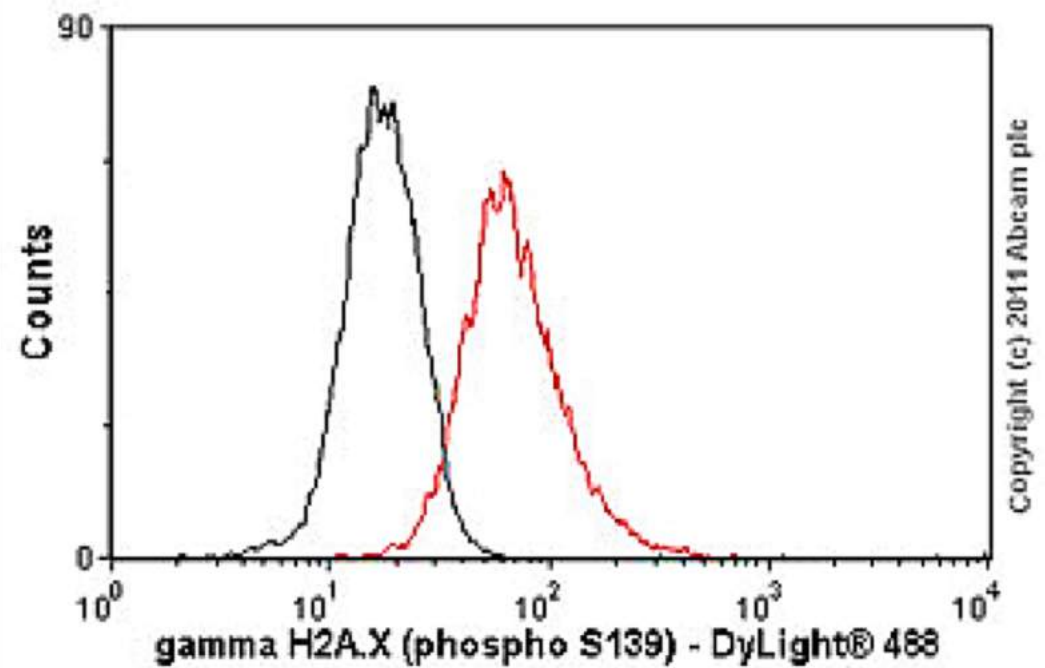


DNA double strand break repair  
Cell cycle arrest

## Imunofluorescência



## Citometria de fluxo





# Potencial mutagênico de vacinas

Biomedicine & Pharmacotherapy 98 (2018) 873–885



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Biomedicine & Pharmacotherapy

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biopha](http://www.elsevier.com/locate/biopha)



Analysis of antioxidant, cytotoxic and mutagenic potential of *Agave sisalana* Perrine extracts using Vero cells, human lymphocytes and mice polychromatic erythrocytes



Rodrigo Pinheiro Araldi<sup>a,b</sup>, Maristela Oliveira dos Santos<sup>c</sup>, Fabiane Faria Barbon<sup>c</sup>,  
Bruna Aparecida Manjerona<sup>c</sup>, Bruno Rosa Meirelles<sup>c</sup>, Pedro de Oliva Neto<sup>c</sup>,  
Pedro Ismael da Silva Júnior<sup>d</sup>, Lucinéia dos Santos<sup>c</sup>, Isabel Cristina Cherici Camargo<sup>c</sup>,  
Edislane Barreiros de Souza<sup>c,\*</sup>



Available online at  
**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com/en



## Review

# Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review



Rodrigo Pinheiro Araldi<sup>a,b,c</sup>, Thatiana Corrêa de Melo<sup>a,d</sup>, Thais Biude Mendes<sup>c,d</sup>,  
Paulo Luiz de Sá Júnior<sup>a</sup>, Bruno Heidi Nakano Nozima<sup>d</sup>, Eliana Tiemi Ito<sup>c</sup>,  
Rodrigo Franco de Carvalho<sup>a</sup>, Edislane Barreiros de Souza<sup>c</sup>, Rita de Cassia Stocco<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Genética, Instituto Butantan, São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>b</sup> Programa de Pós-graduação Interunidades em Biotecnologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>c</sup> Laboratório de Biologia Molecular, Genética e Mutagênese, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Assis, São Paulo, Brazil

<sup>d</sup> Programa de Pós-graduação em Morfologia Funcional e Estrutural, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, São Paulo, Brazil



# Mutações e heterogeneidade tumoral

C Cell of origin in patients of different ages

Cancer Cell  
Special Collection



## Cancer Stem Cells: Impact, Heterogeneity, and Uncertainty

Jeffrey A. Magee,<sup>1</sup> Elena Piskounova,<sup>1</sup> and Sean J. Morrison<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Howard Hughes Medical Institute, Children's Research Institute, and Department of Pediatrics, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, 75390, USA

\*Correspondence: [sean.morrison@utsouthwestern.edu](mailto:sean.morrison@utsouthwestern.edu)

DOI 10.1016/j.ccr.2012.03.003



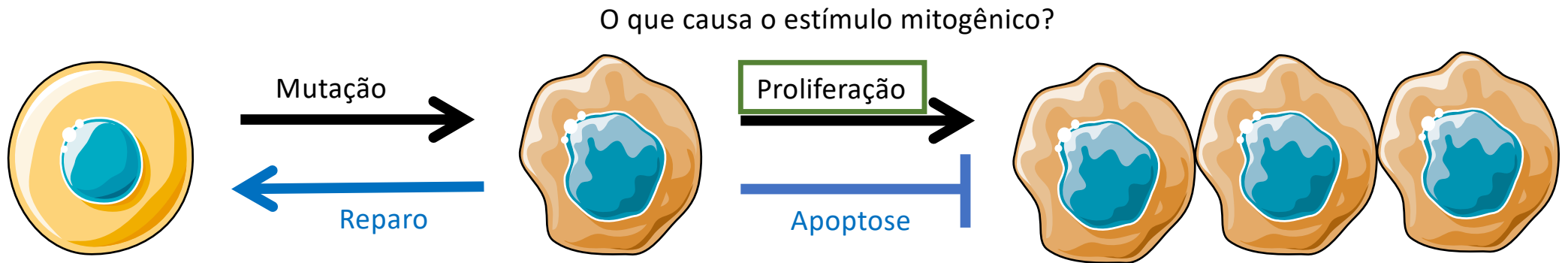
MLL translocation



# Promoção e progressão neoplásica



# O que determina a promoção do câncer?

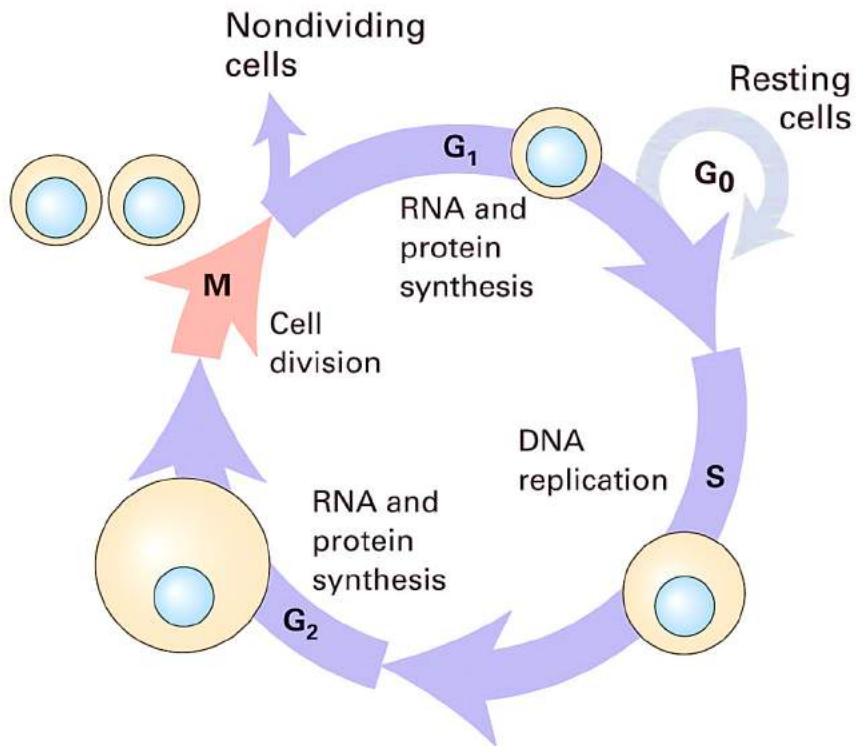




## Considerações gerais

- Mutação é necessária, mas não suficiente para causar o câncer
- **Promoção**: estágio em que células geneticamente instáveis (mutadas) são estimuladas a se proliferarem
  - Superexpressão de **fatores de crescimento**
    - EGF (epitelial)
    - FGF (fibroblástico)
    - VEGF (vascular)
    - PDGF (derivado de plaquetas)
    - Etc.
  - Sensibilização a fatores expressos pelo microambiente neoplásico
  - Superexpressão de telomerasas: **imortalização celular**

# Ciclo celular sob a óptica molecular



Qual fase do ciclo é mais contributiva para a proliferação?

Qual fase do ciclo possui maior demanda bioenergética?

Como ocorre a ativação do ciclo celular?

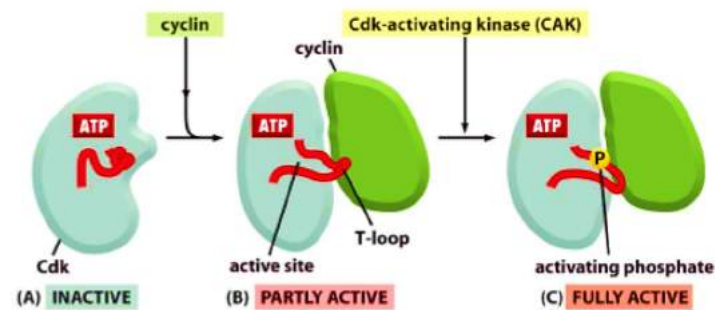
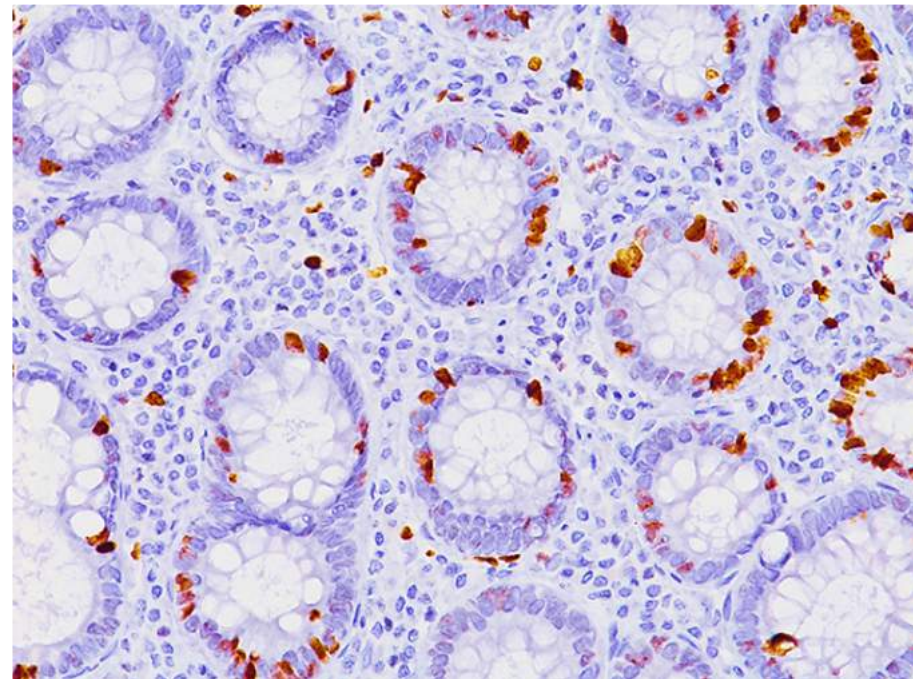
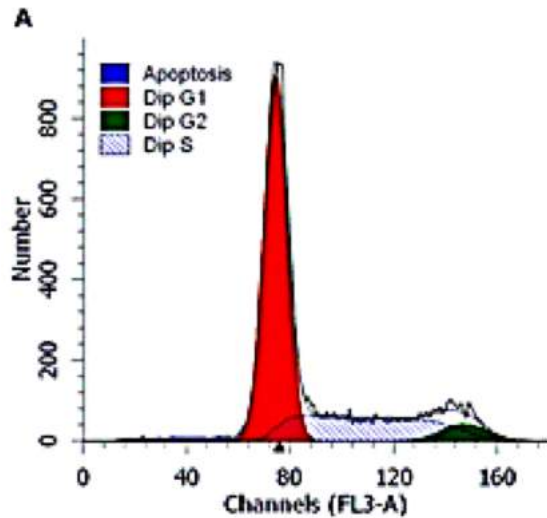


Figure 13-17 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

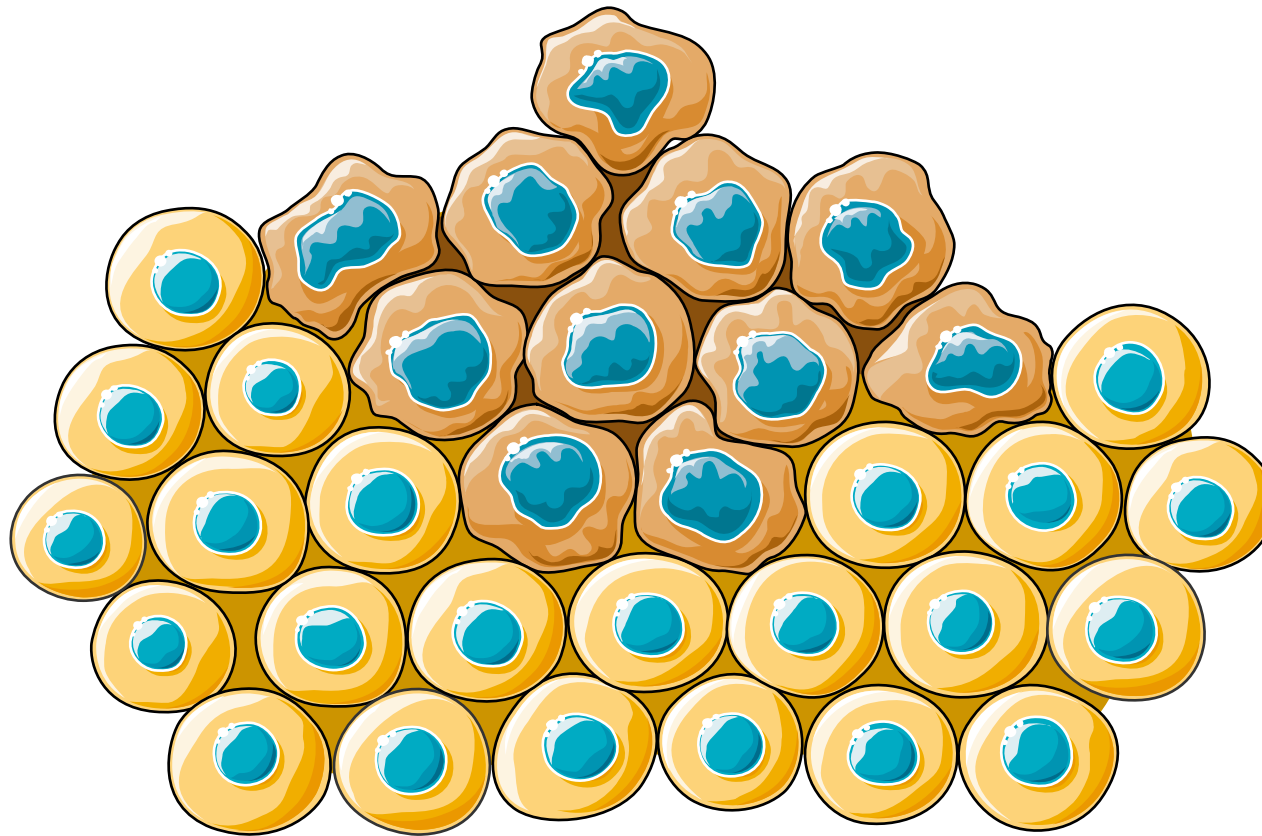
## Como estudar o ciclo celular?

- Métodos devem ser alinhados com o propósito
- Análise da progressão neoplásica





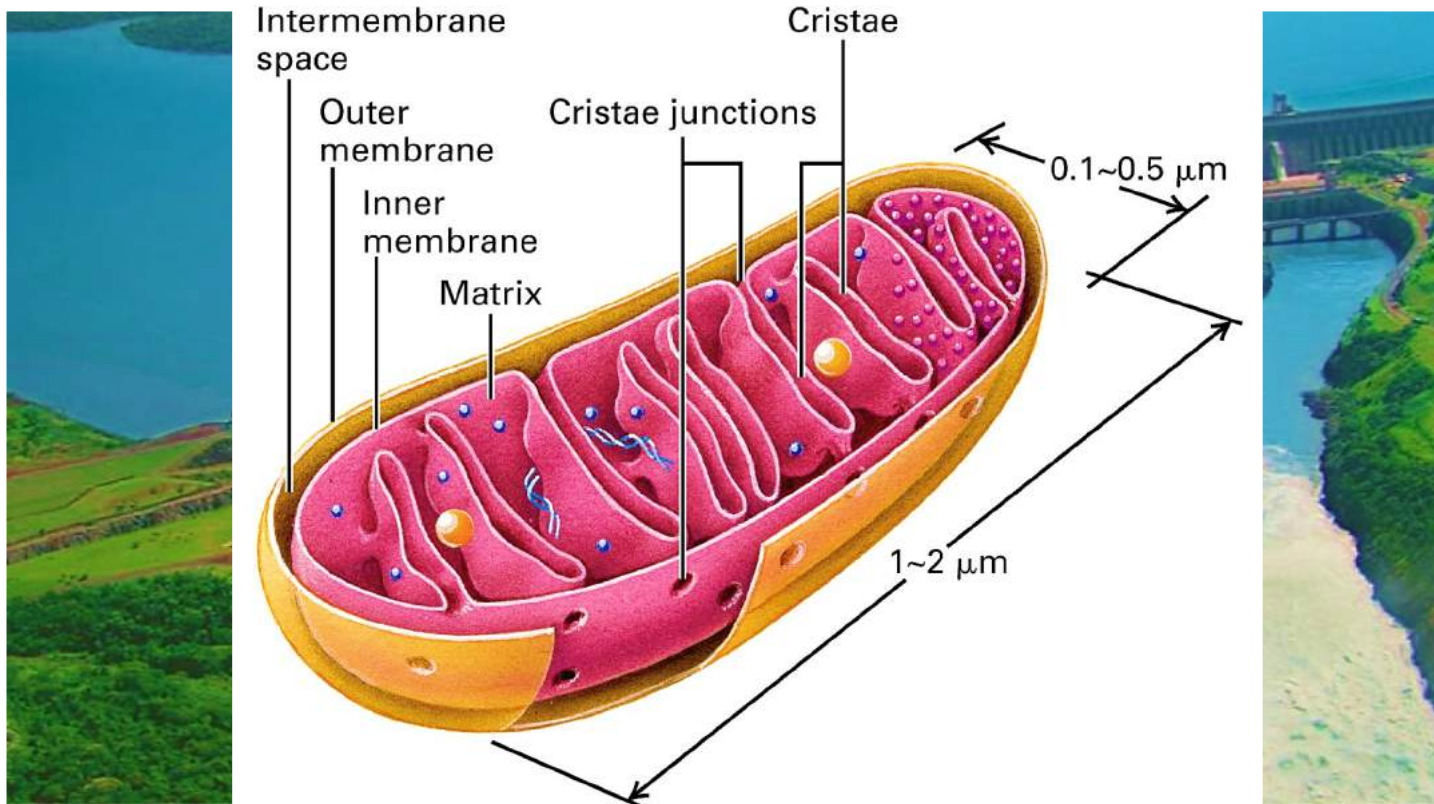
A medida que o câncer progride, o que ocorre com a pressão de oxigênio?



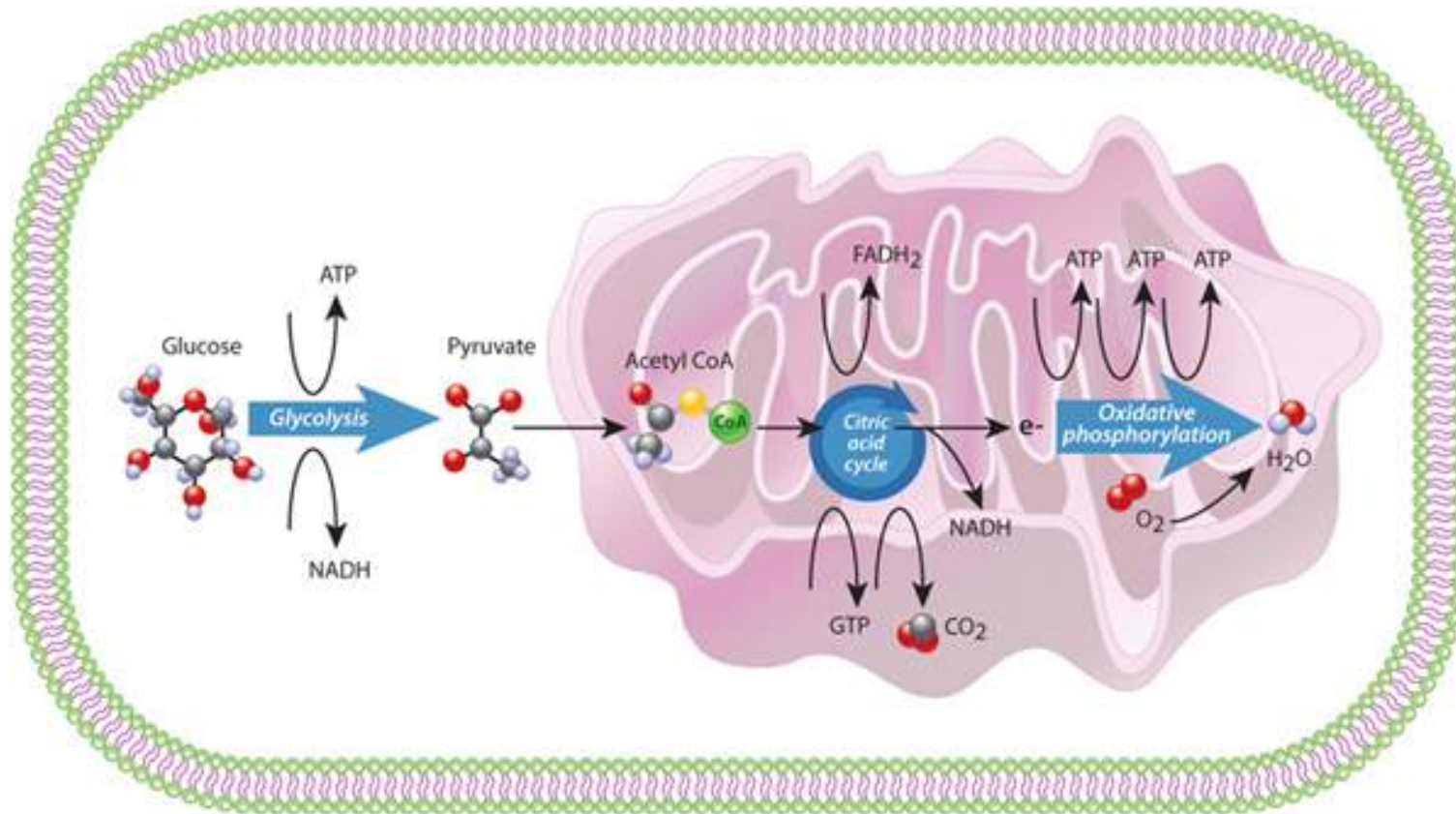
## Bioenergética celular

- Vida requer **energia livre** do ambiente e **matéria-prima** para realizar as reações catalíticas necessárias à vida
- Energia livre: necessária à propagação da informação genética (**hereditariedade**)
- Matéria-prima: essencial na síntese de DNA, RNA e proteínas
  - seis elementos são essenciais: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre e fósforo
- Quando ocorrem abalos na produção de energia ou no aporte de matéria-prima, célula morre
- Adenosina trifosfato (**ATP**): principal fonte de energia livre da célula

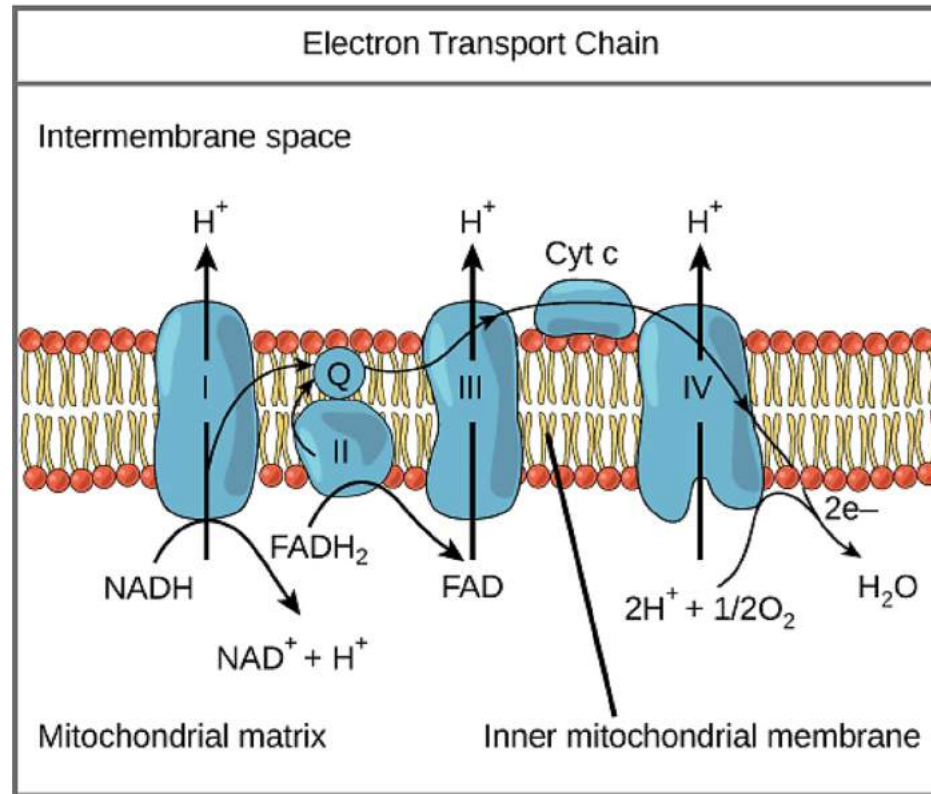
# Metabolismo aeróbico e síntese de ATP



# Visão geral do metabolismo oxidativo

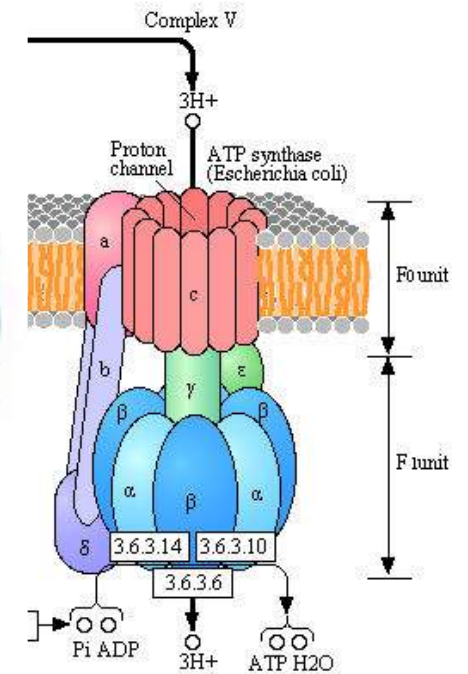
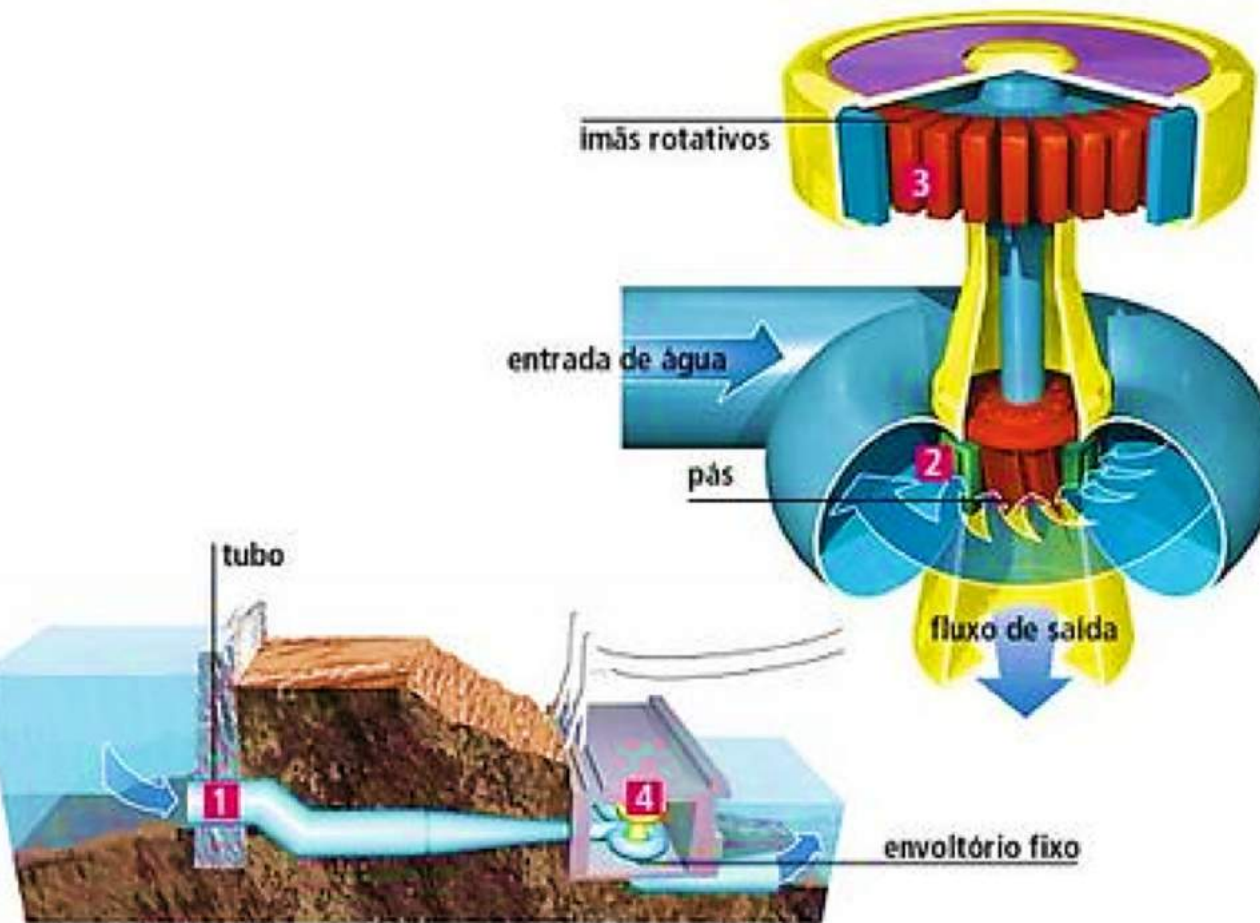
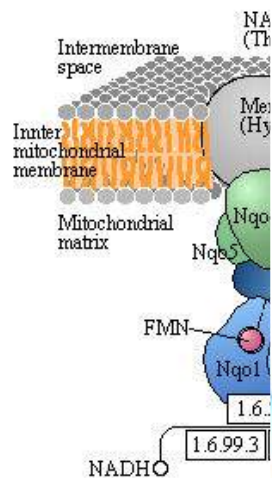


# Bases moleculares da bioenergética

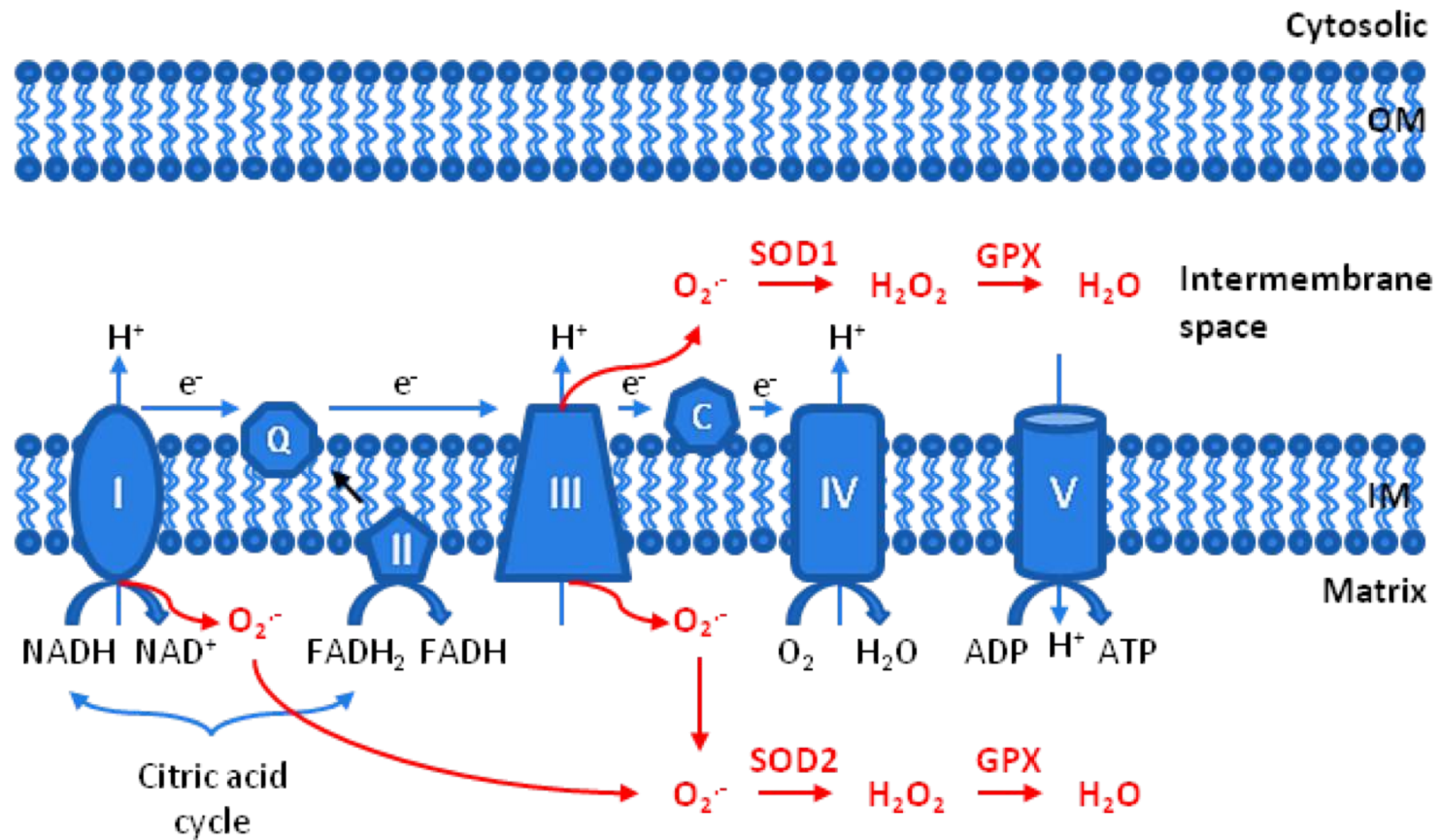




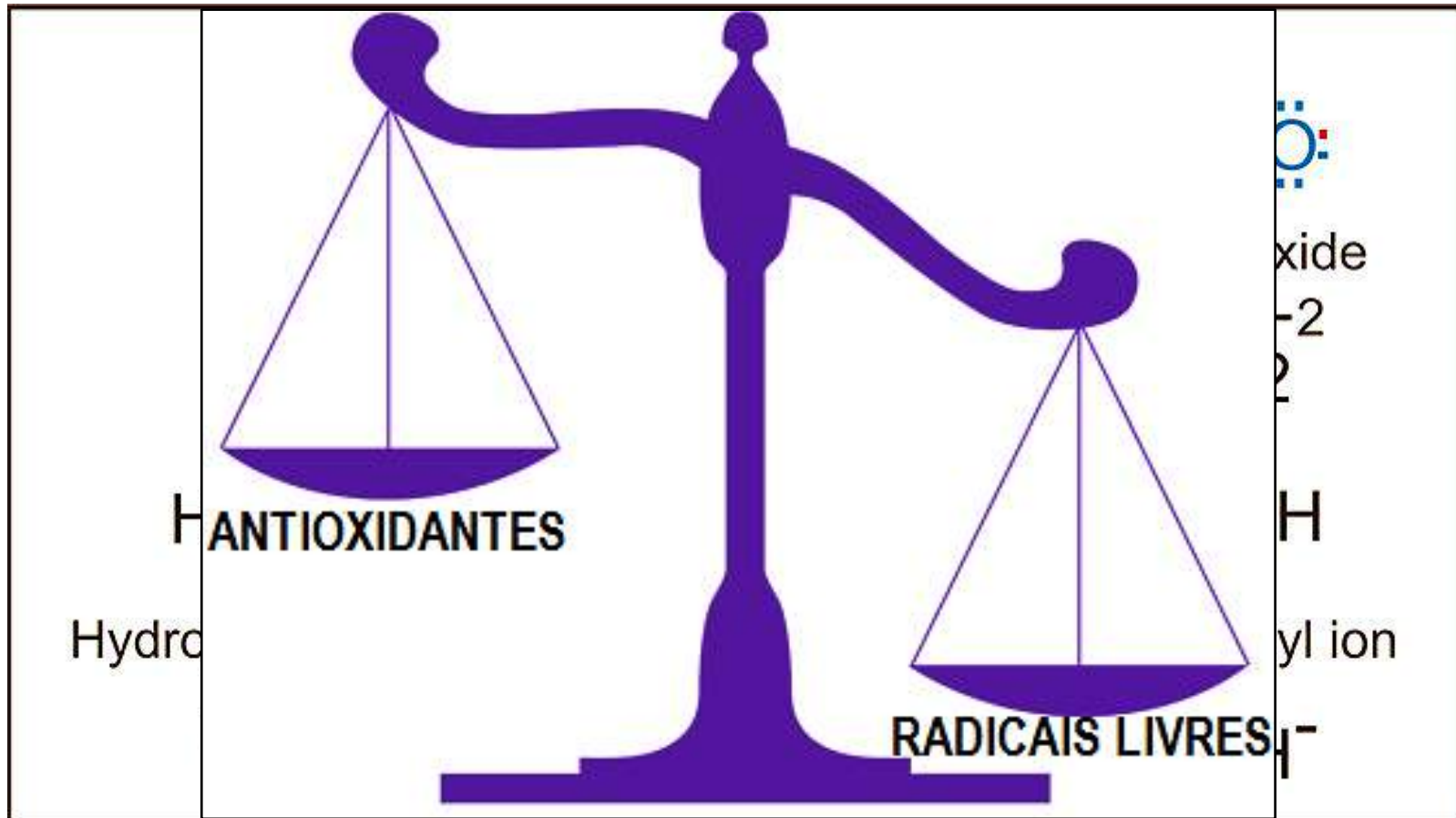
# Curiosidade...



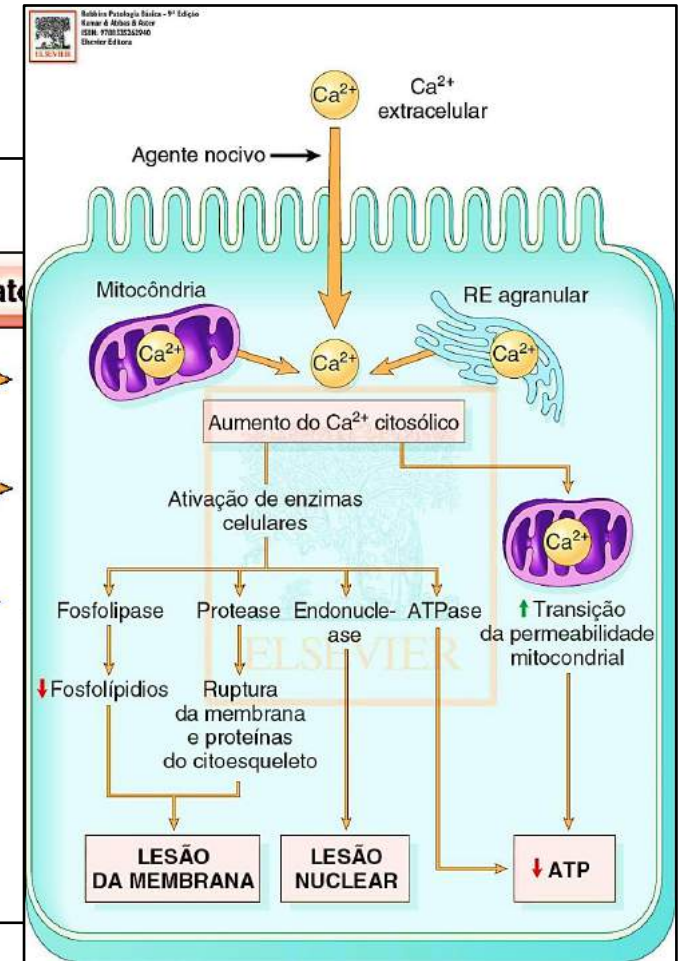
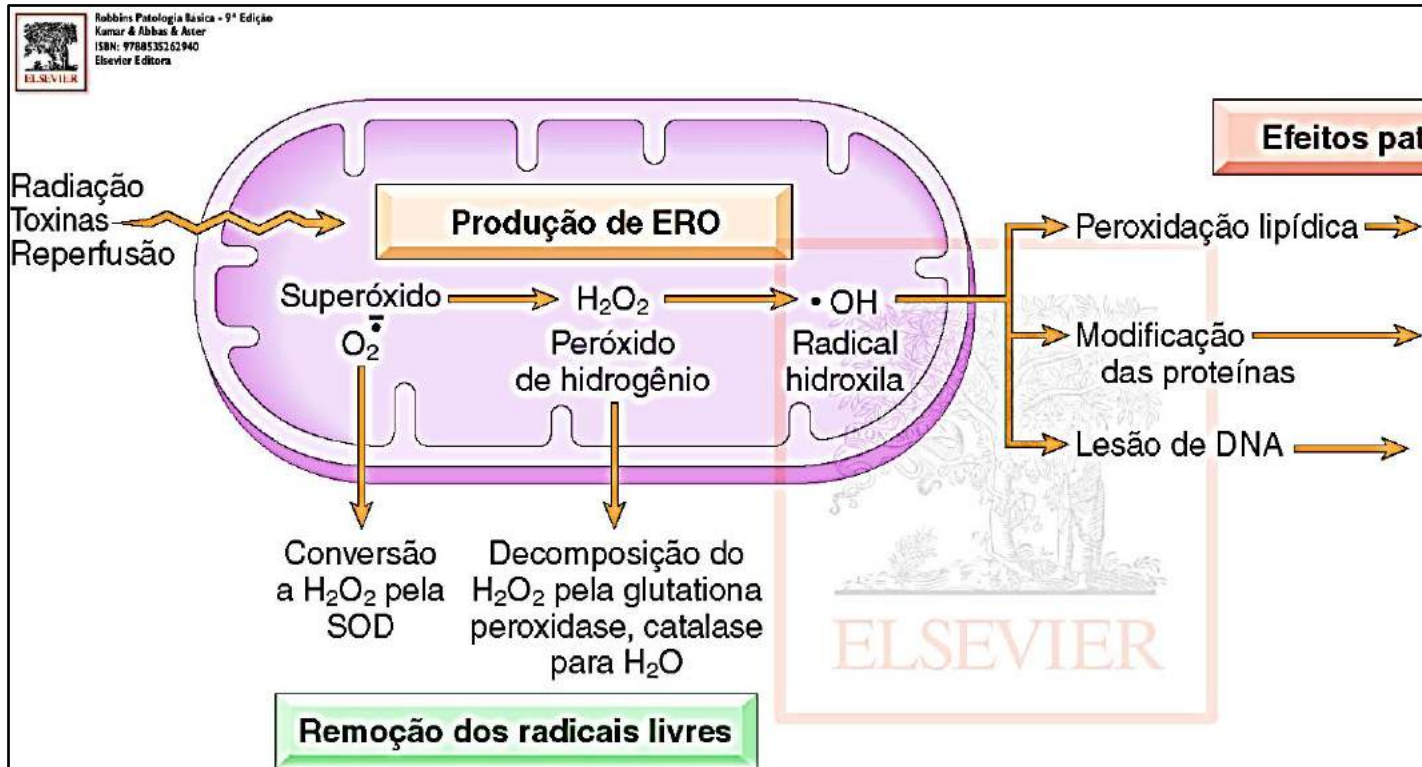
# Produção de espécies reativas de oxigênio



# Radicais livres

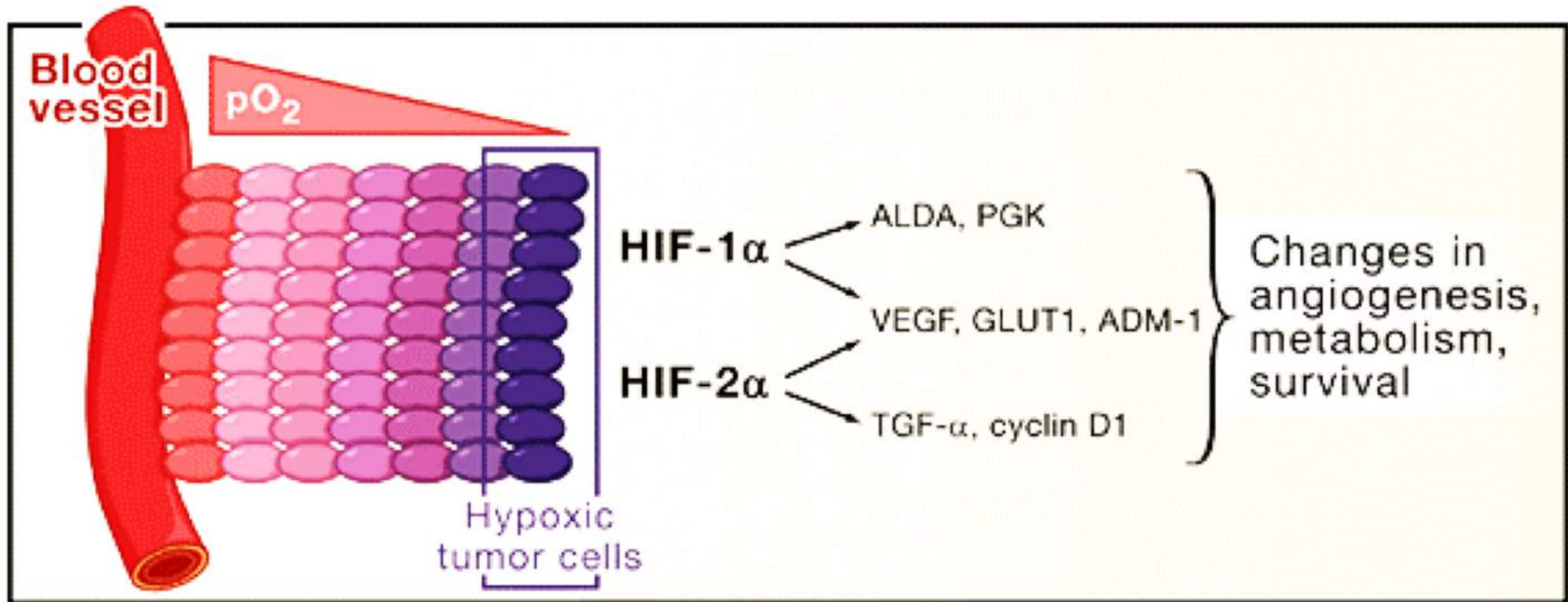


## Efeitos das ROS



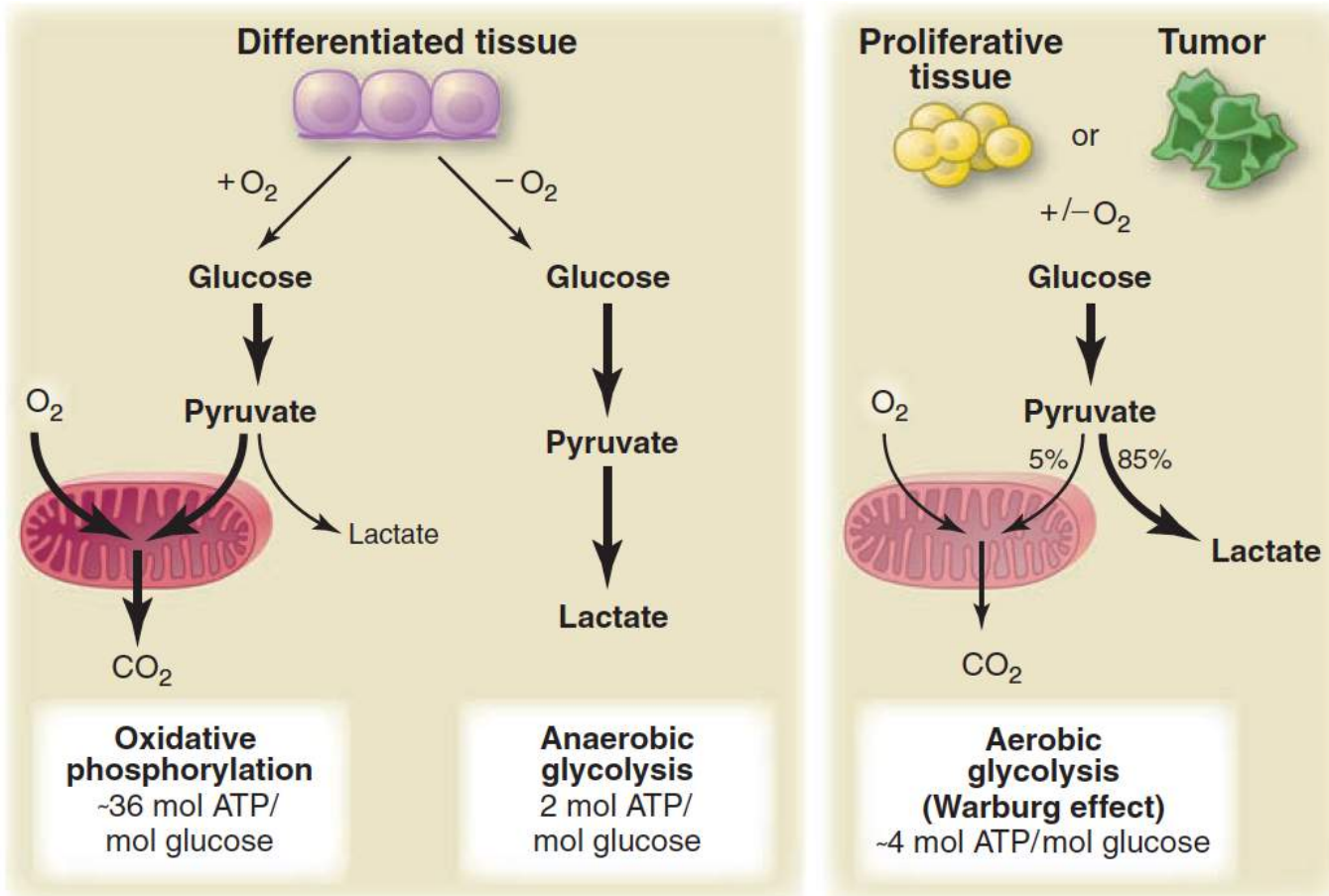


## Consequência da progressão do câncer

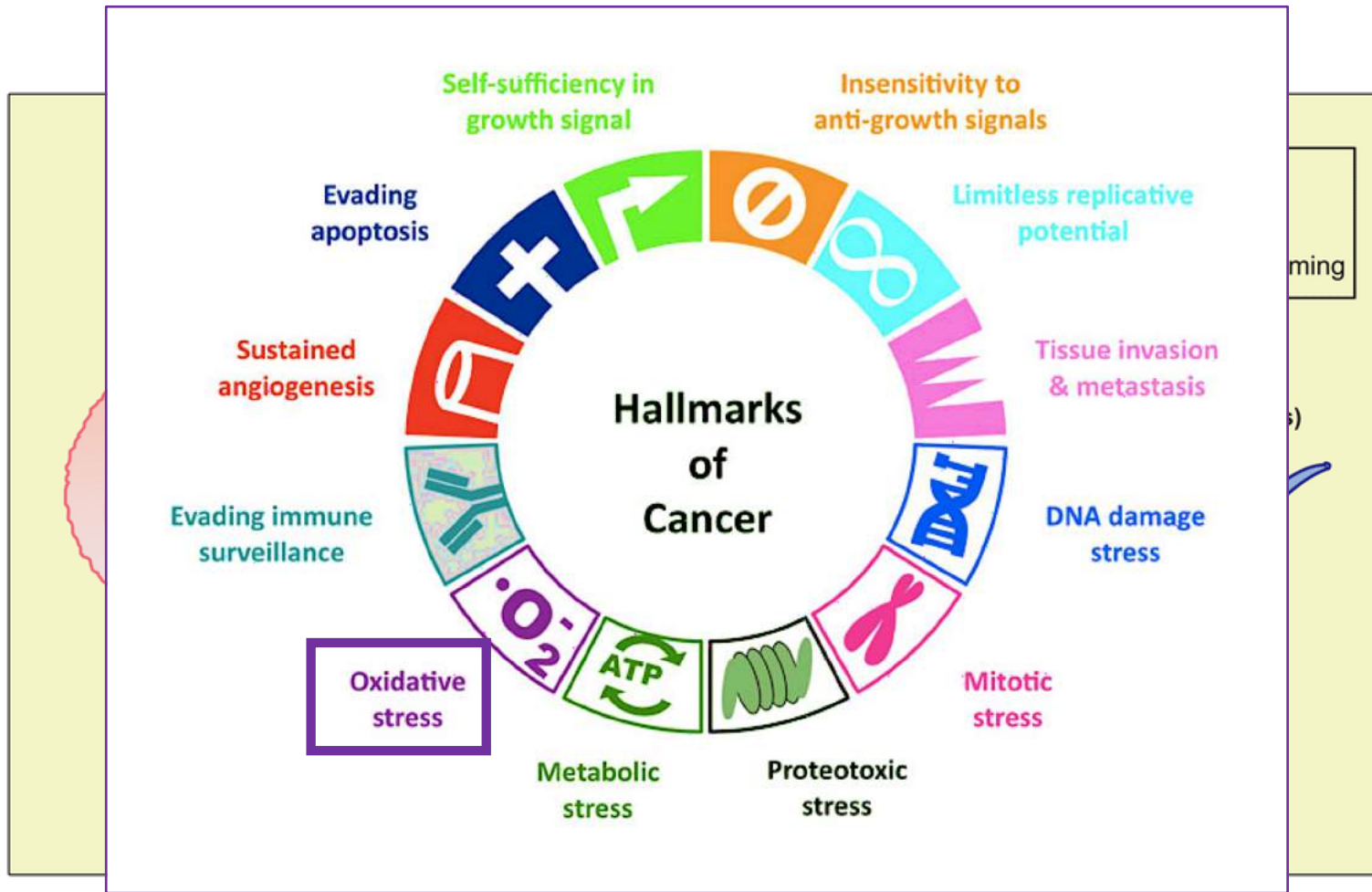




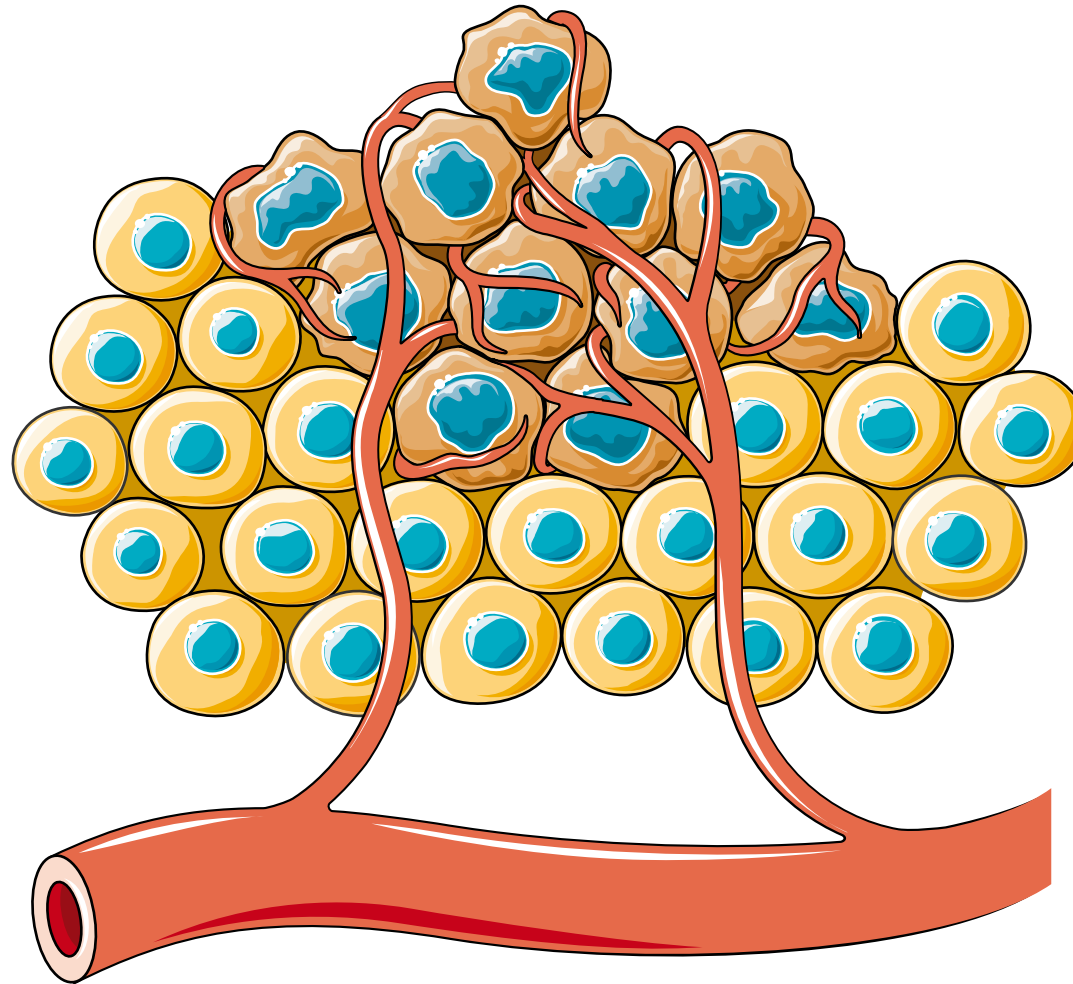
# Efeito Warburg



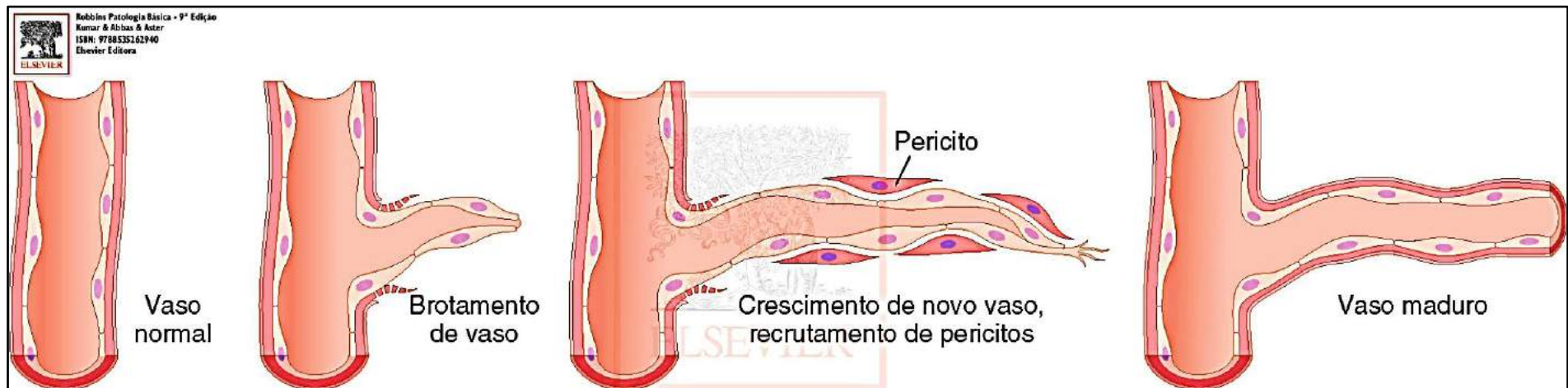
# Efeito Warburg no microambiente neoplásico



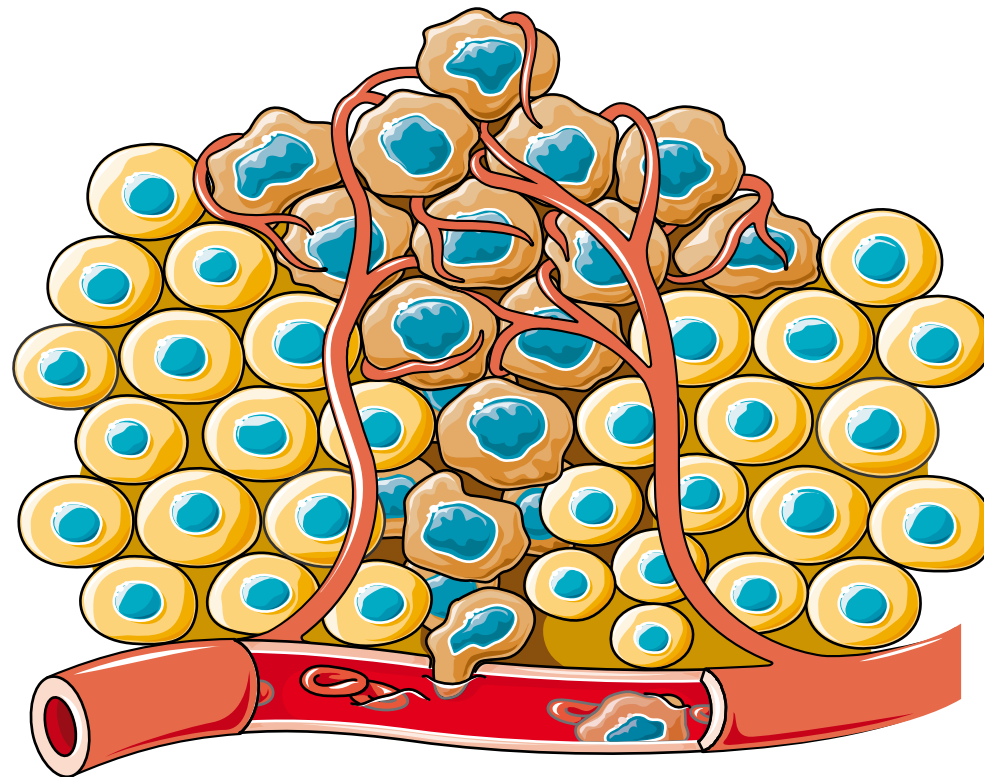
## Angiogênese sustentada



# Mecanismo de angiogênese



# Consequências da angiogênese





# Biologia Molecular do Câncer



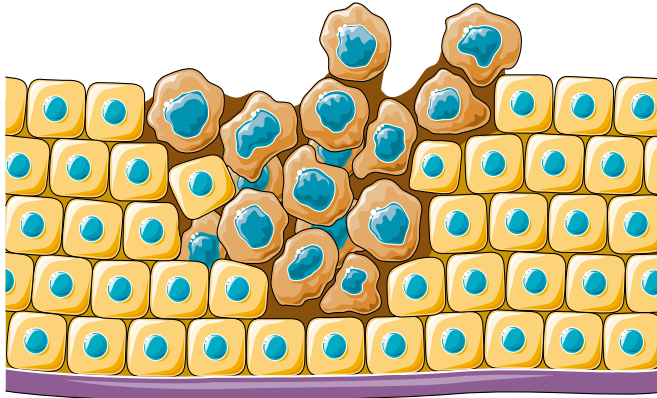


Metástase

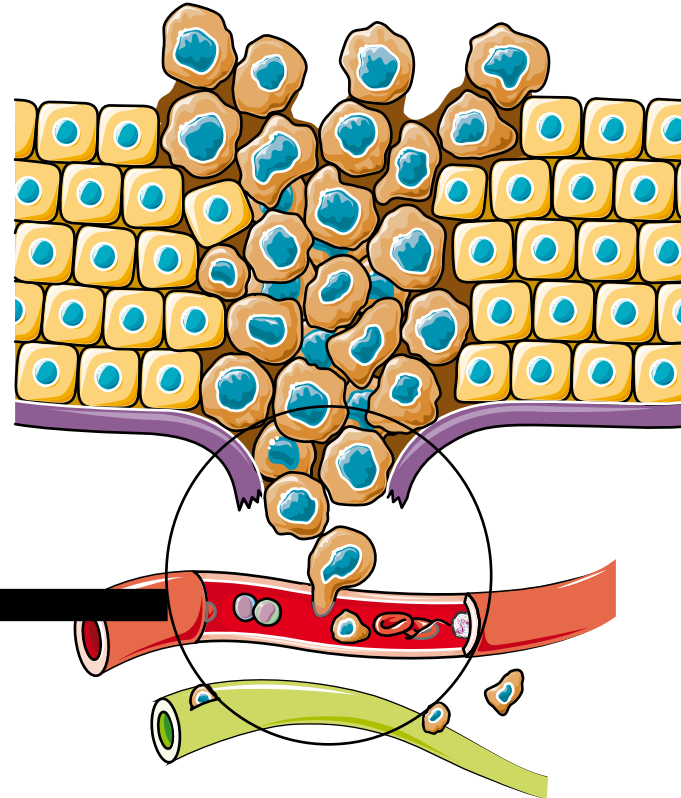


# Disseminação de células cancerígenas

Carcinoma *in situ*



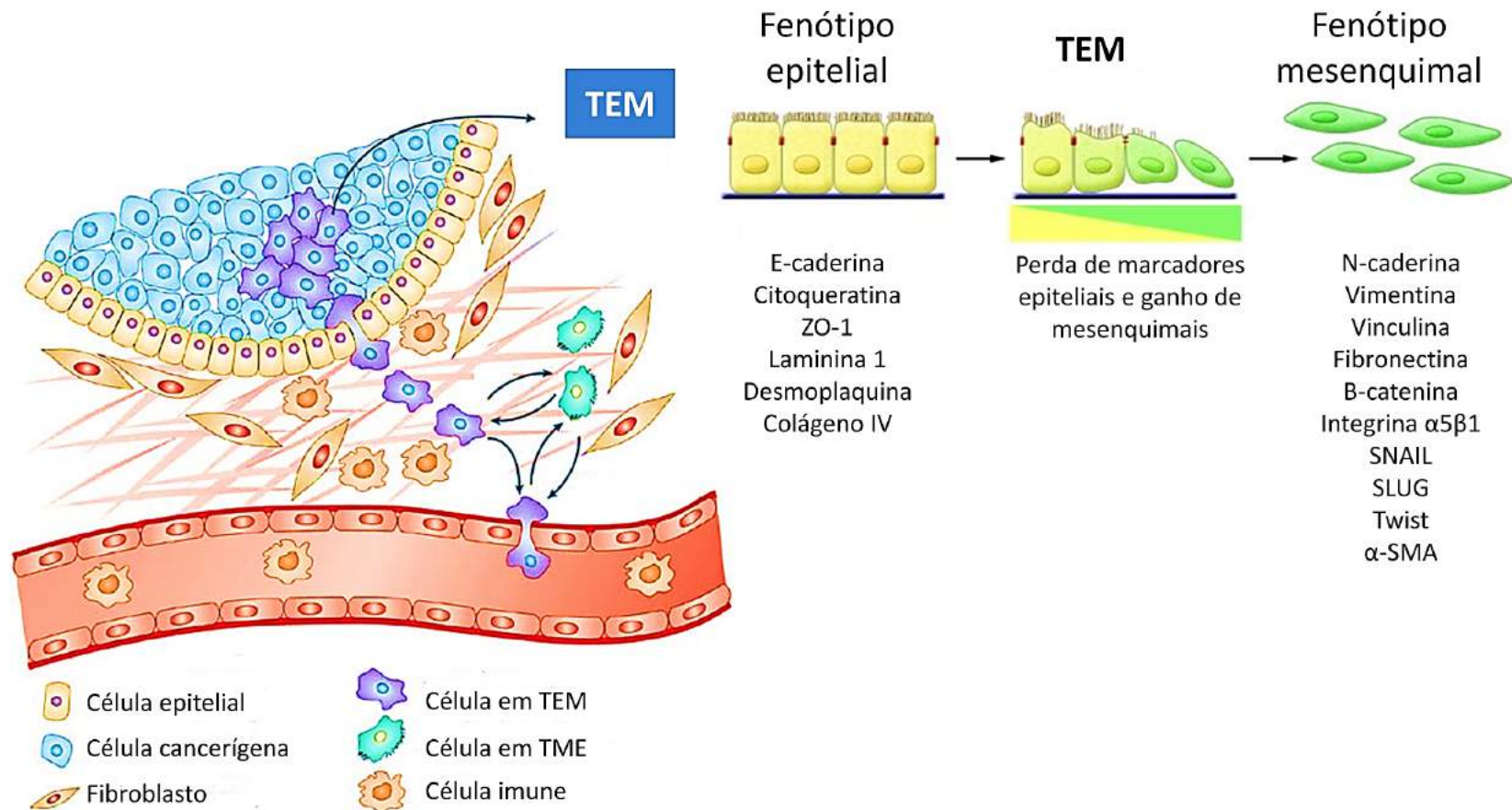
Carcinoma invasivo



## Transição epitélio-mesênquima (TEM)

- 1908: Frank Lillie
- 2005: Elizabeth Hay

# Transição epitélio-mesênquima (TEM)

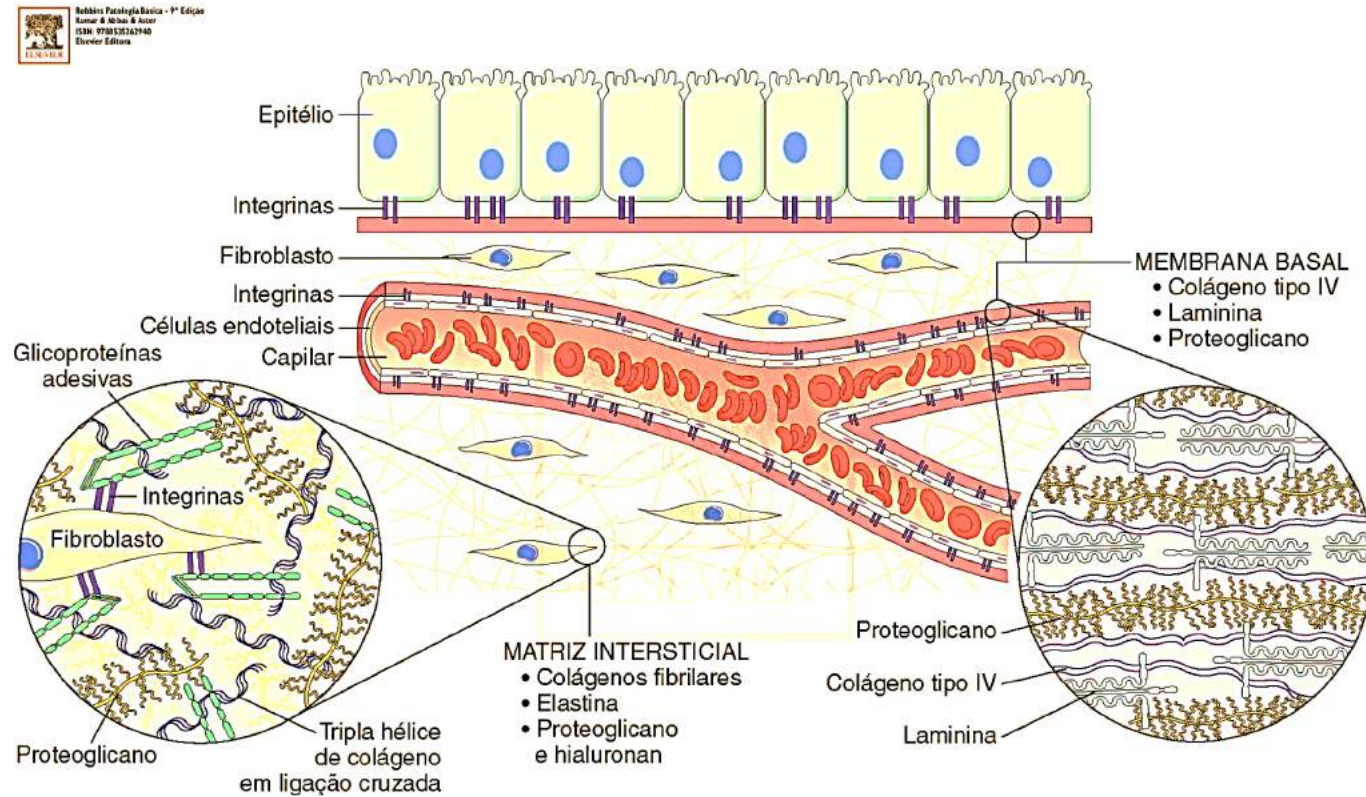




## Alterações verificadas na TEM

- **Alterações fenotípicas reversíveis:** redução de marcadores epiteliais e aumento de mesenquimais
- **Alterações no metabolismo energético:** conferindo aporte de ATP e redução de danos por EROs
- Resistência a apoptose com perda de adesão (**anoikis**): necessário durante migração
- **Aquisição de fenótipo-tronco:** resistência ao estresse
- **Aquisição de fenótipo migratório:** filopódios e aumento da velocidade de migração
- **Degradação da matriz extracelular.**

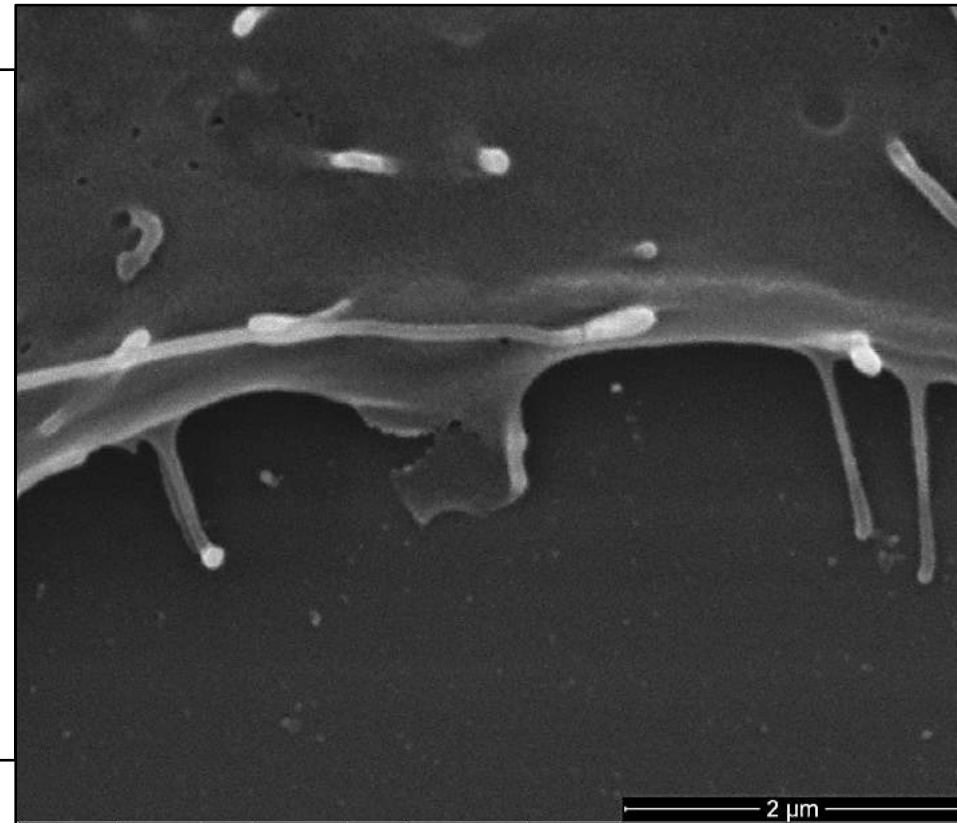
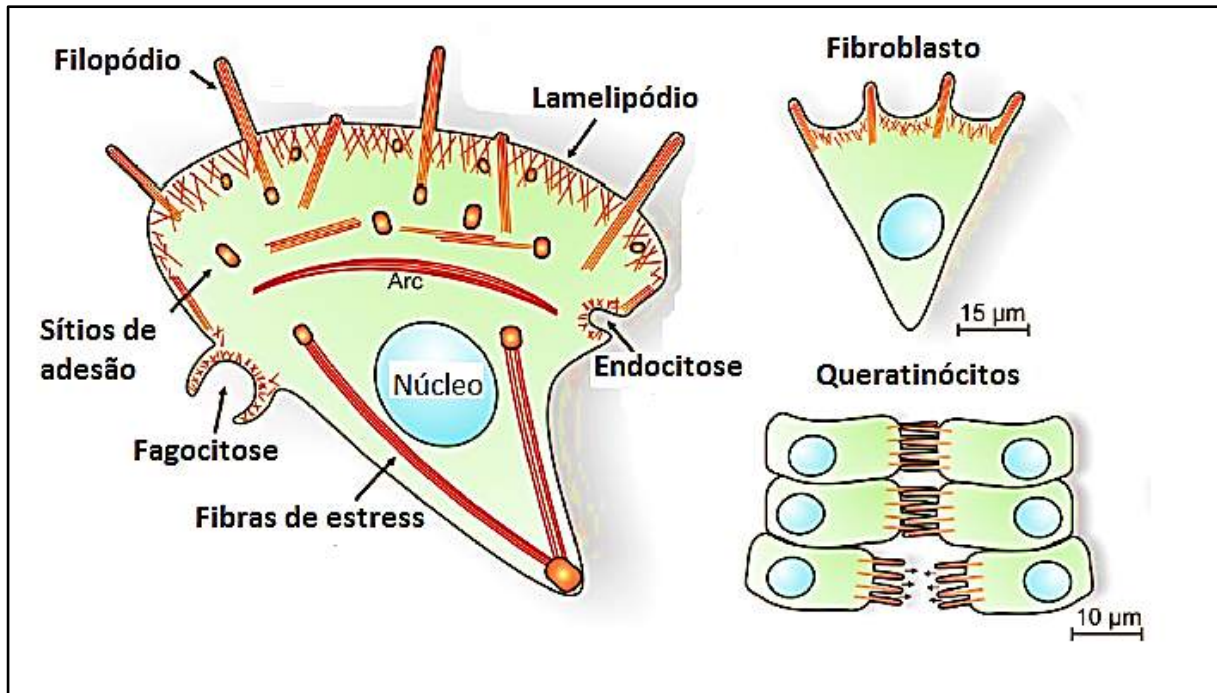
## Organização dos tecidos



# Biologia Molecular do Câncer

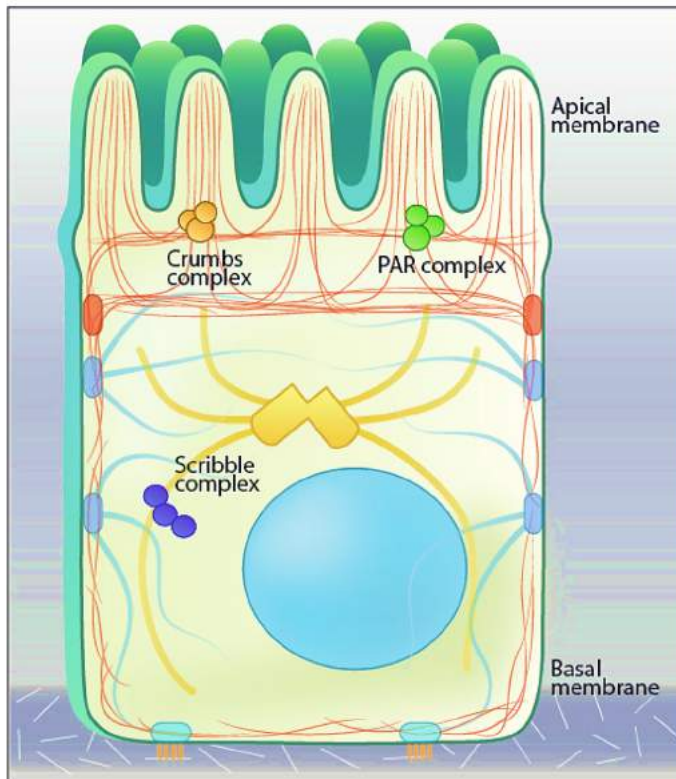


# Aquisição do potencial migratório

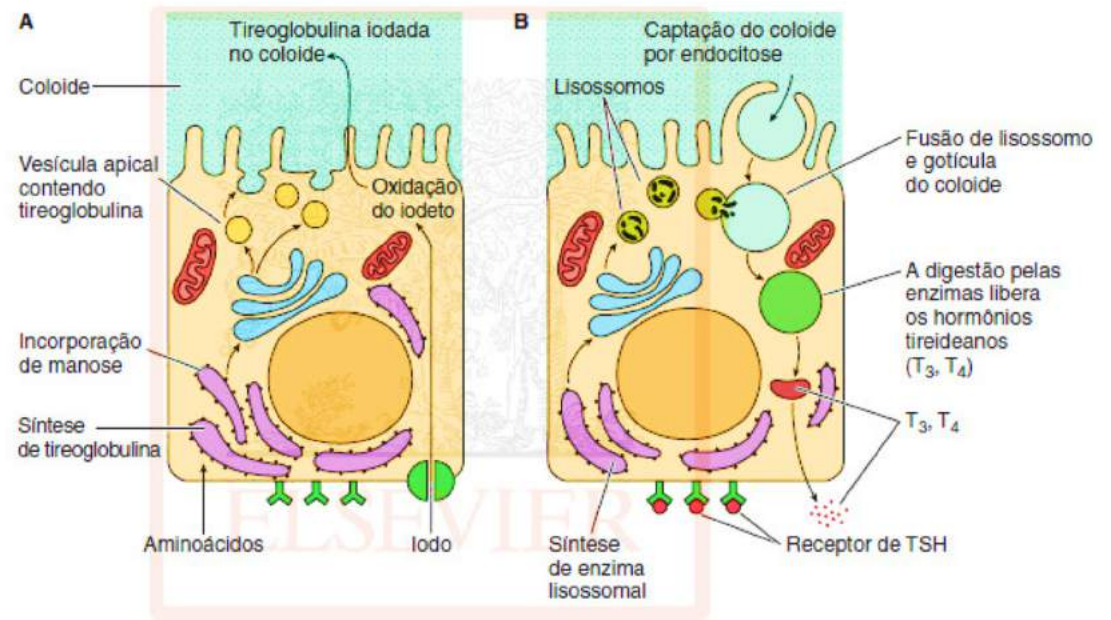




# Polaridade celular

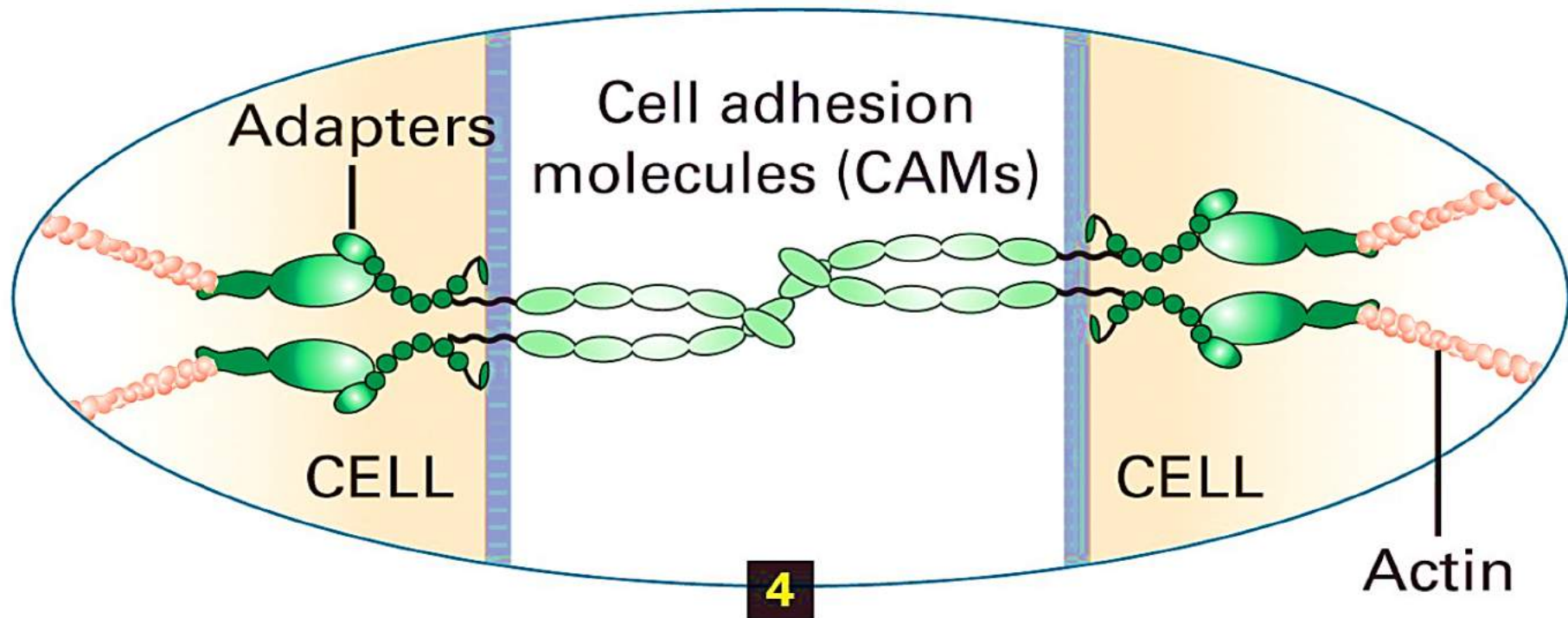


HISTOLOGIA ESSENCIAL -  
Gartner & Hiatt  
ISBN: 9788535244649  
Elsevier Editora





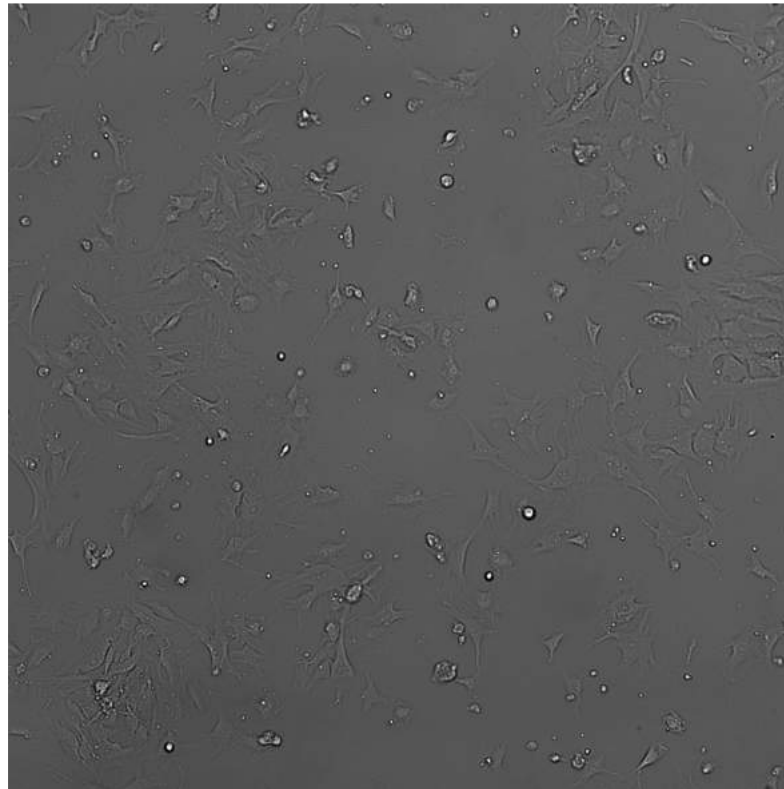
# Mecanismos de adesão celular



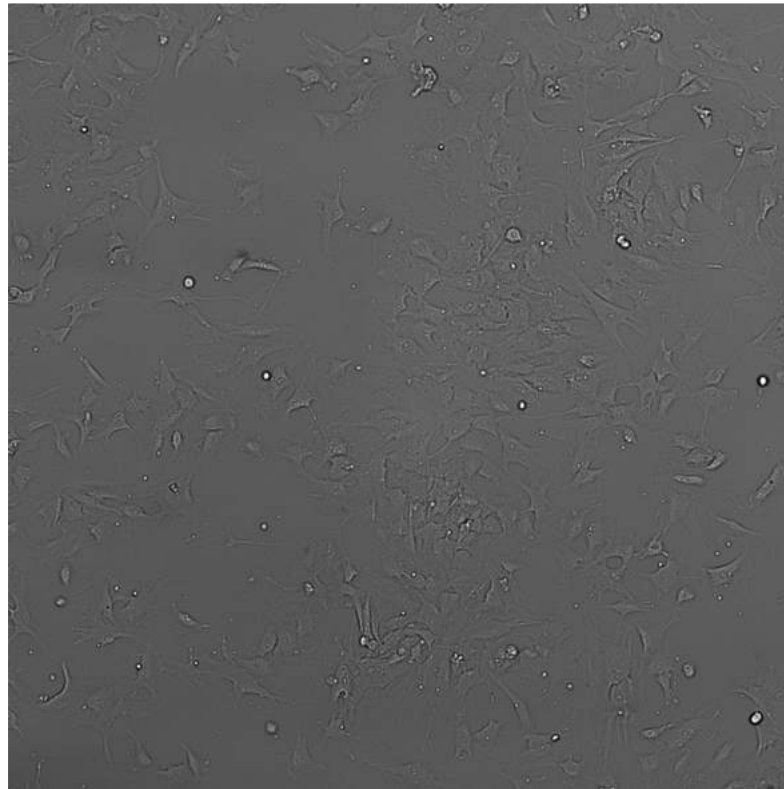
4

**CELL-CELL ADHESIONS**

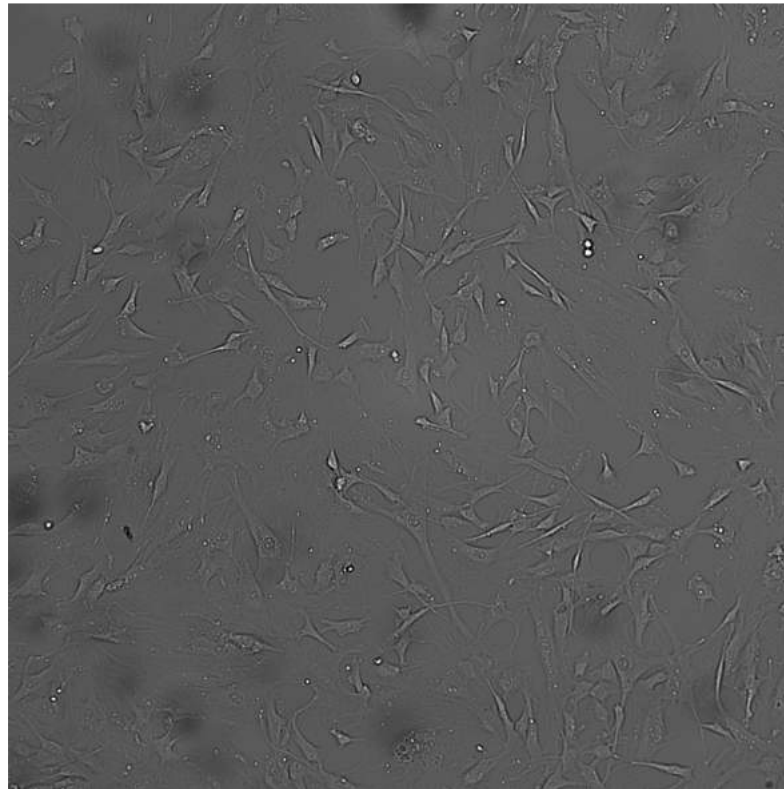
## *Time-lapse* - Células normais



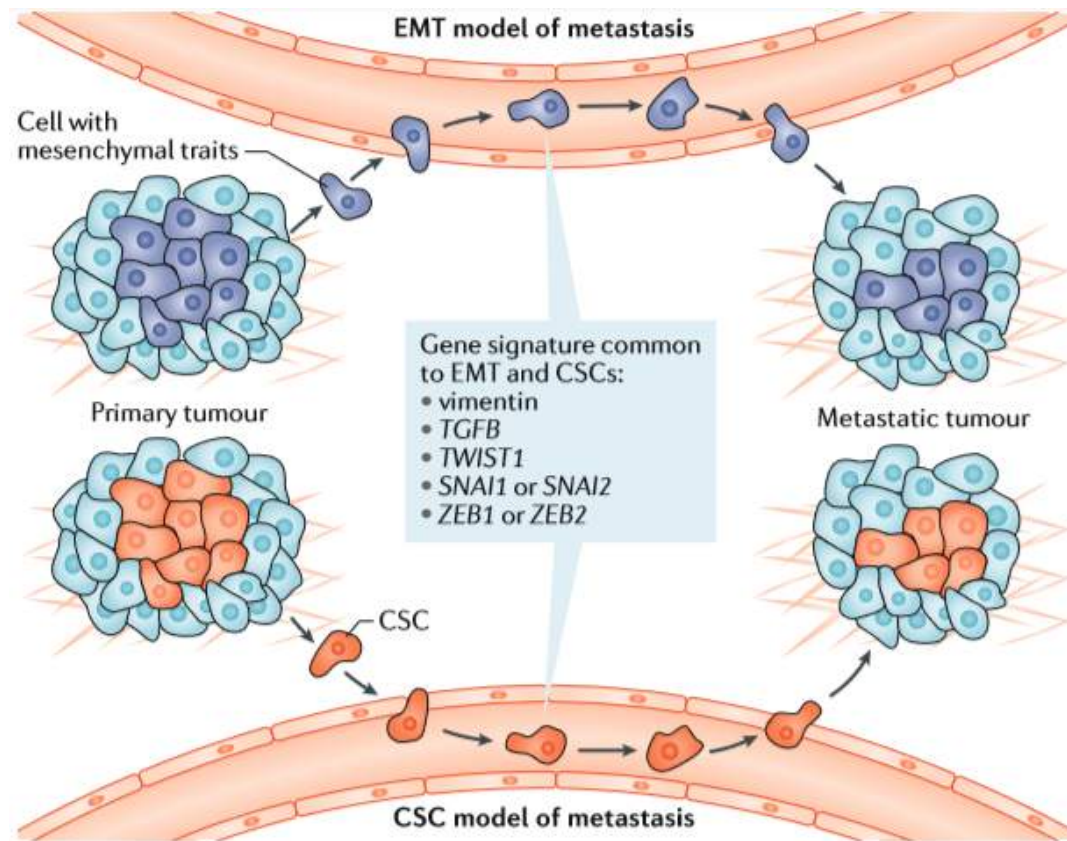
## *Time-lapse* – Neoplasia benigna



## *Time-lapse* – Neoplasia maligna

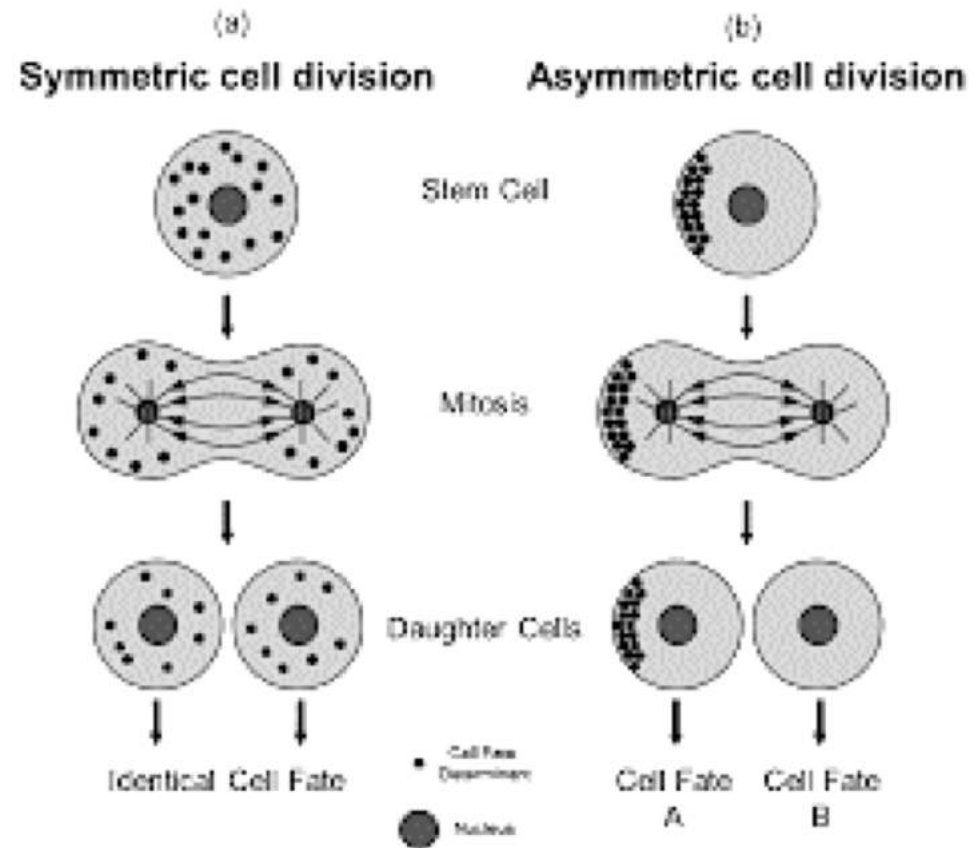
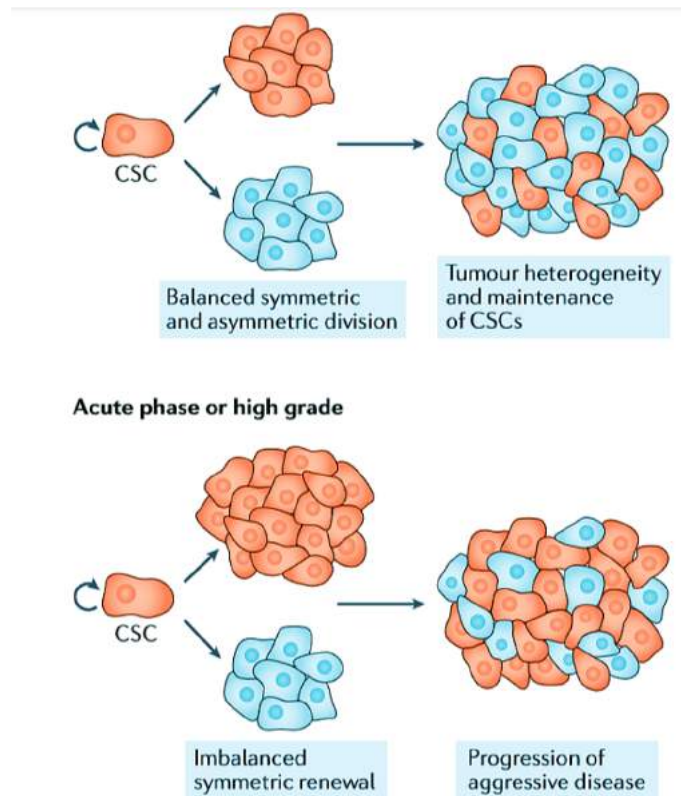


# TEM e células-tronco cancerígenas

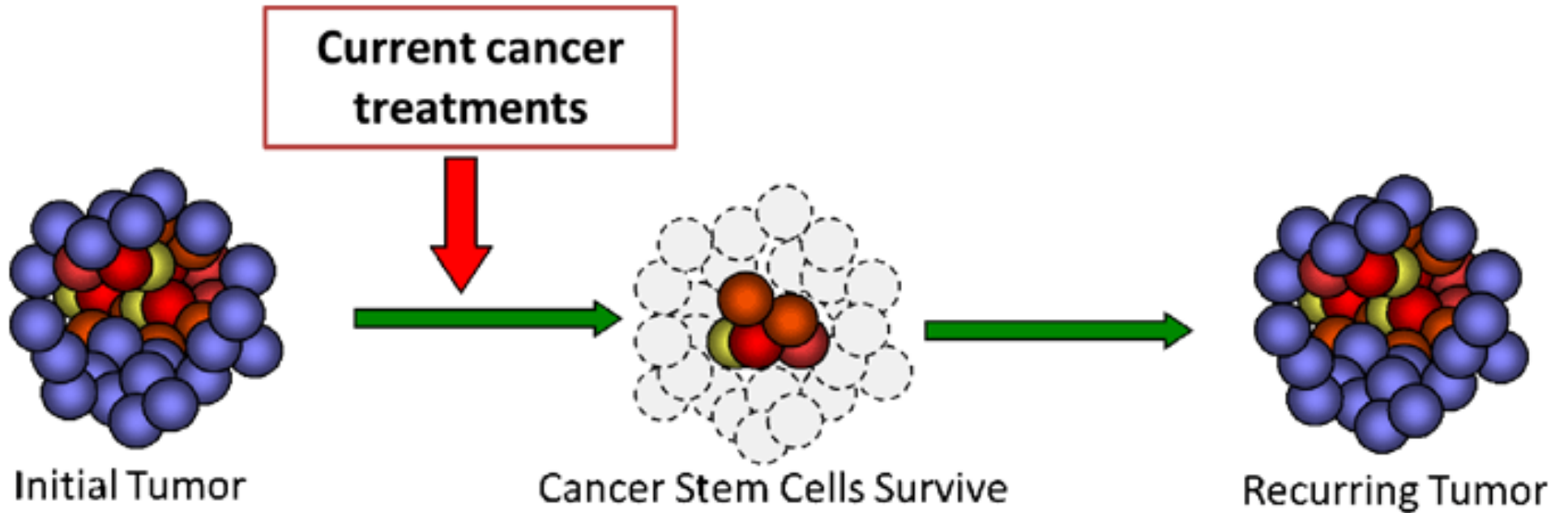




# Células-tronco cancerígenas e heterogeneidade



# Células-tronco cancerígenas



# Consequências das CTCs

Cell Stem Cell  
**Perspective**



## **Cancer Stem Cells: Current Status and Evolving Complexities**

Jane E. Visvader<sup>1,2,\*</sup> and Geoffrey J. Lindeman<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>VBCRC Laboratory, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, VIC 3052, Australia

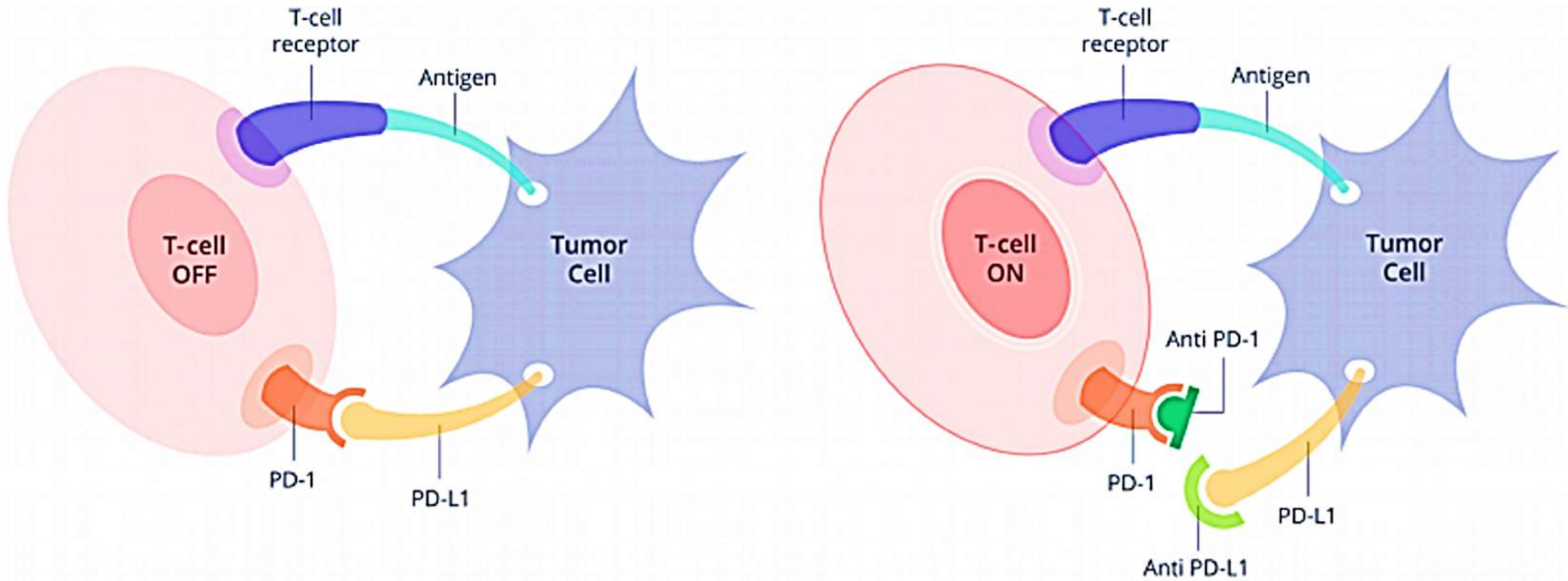
<sup>2</sup>University of Melbourne, Parkville, VIC 3050, Australia

<sup>3</sup>Department of Medical Oncology, Royal Melbourne Hospital, Parkville, VIC 3050, Australia

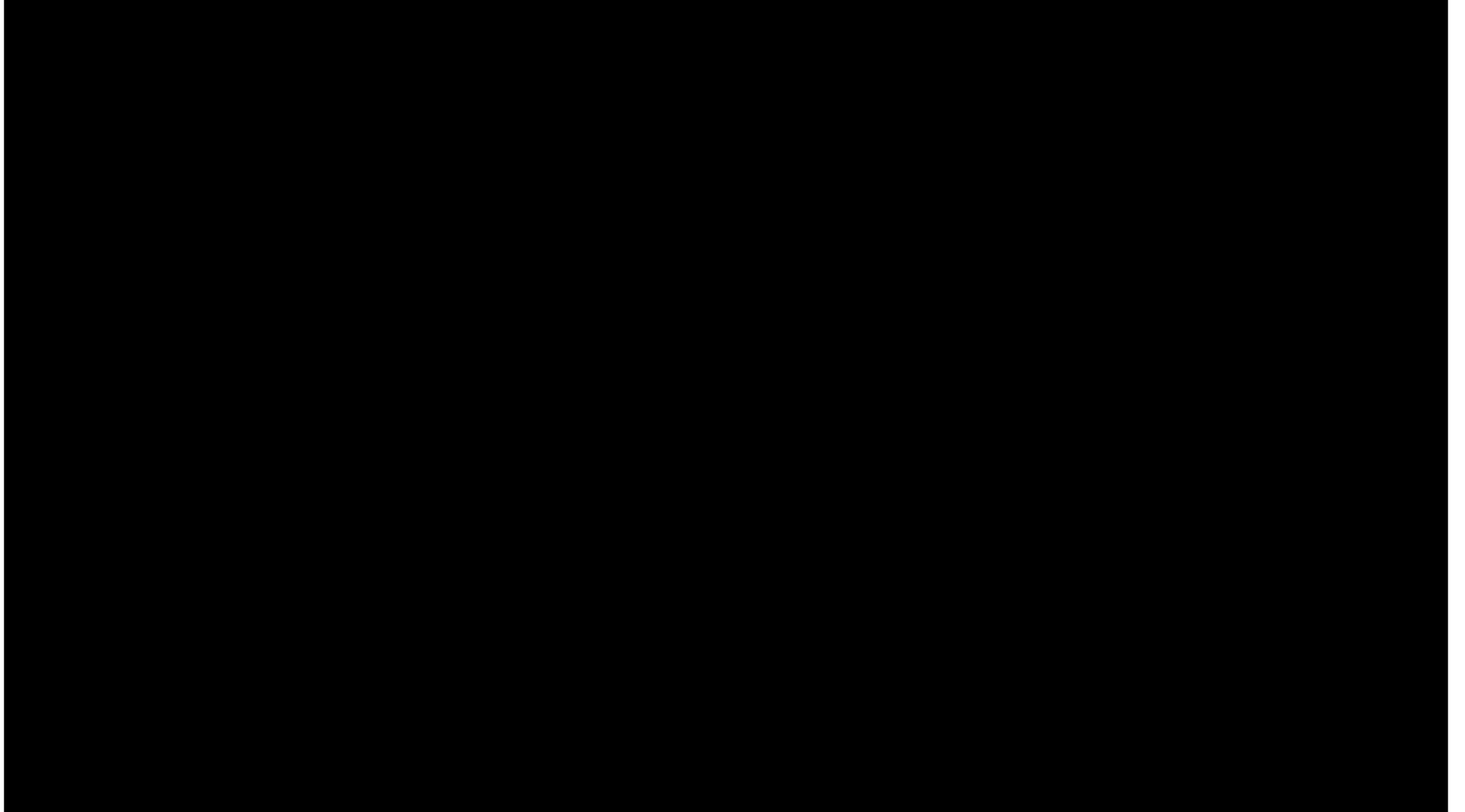
\*Correspondence: [visvader@wehi.edu.au](mailto:visvader@wehi.edu.au)

DOI 10.1016/j.stem.2012.05.007

# Imunoterapia

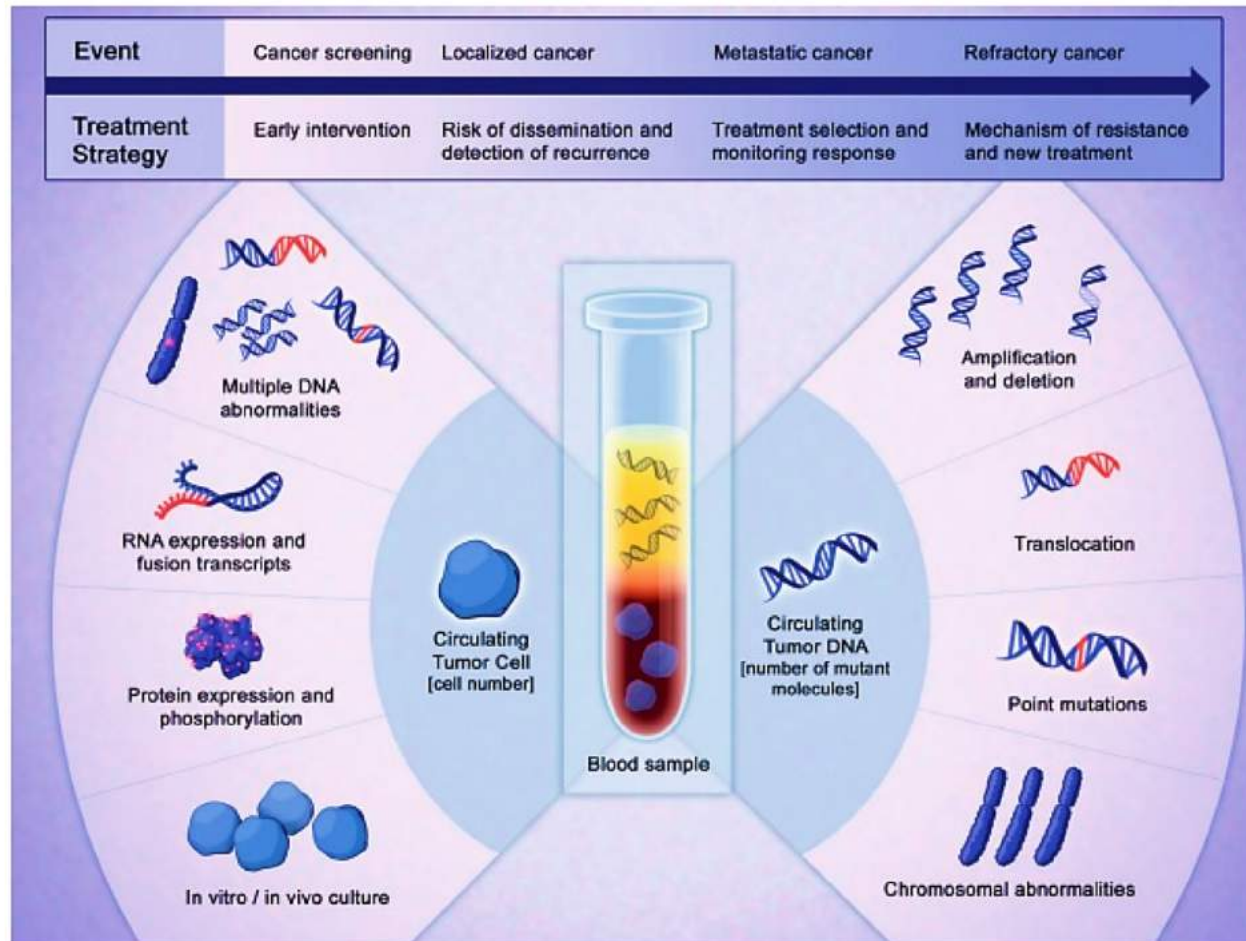


# Biologia Molecular do Câncer





## Biópsias Líquidas



## Perspectivas da oncologia

- Investir em diagnóstico
- Integrar os conhecimentos
- Transpor dados gerados na bancada para clínica (translacional)
- Identificar biomarcadores de CTCs
- Desenvolver novos imunoterápicos
- Diagnosticar metástases antes de sua formação (biópsias líquidas)

Obrigado



[rodrigo.pinheiro.araldi@gmail.com](mailto:rodrigo.pinheiro.araldi@gmail.com)