

SUZANA MESQUITA RIBEIRO

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

GABRIEL MARQUES DE BARROS

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

LUCAS DE MENDONÇA RHORMENS

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

LARISSA CÉZAR SANTIAGO

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

BIANCA AGAMENON MONFARDINI

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

MAURÍCIO GOUVINHAS

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

Recebido em novembro de 2020.

Aprovado em dezembro de 2020.

PROTEÍNAS RAS: UM INIMIGO OCULTO DAS MULHERES?

RESUMO

A família proteica Ras é responsável por regular o destino celular, e por este motivo, perturbações na via de sinalização desta, têm o potencial de gerar neoplasias. Devido a este potencial, essa família é relacionada às neoplasias que mais afetam as mulheres no Brasil, sendo essas a de mama, cervical e colorretal, objetos de estudo do presente trabalho. Alterações na via de instabilidade cromossômica, levam à deleção do p53, o que ocasiona o desenvolvimento da neoplasia colorretal. Modificações na via de sinalização Ras/MAPK, podem levar à superexpressão da K-Ras, o que se relaciona com o desenvolvimento de neoplasia de mama. A relação entre o silenciamento do gene que regula a proteína Ras e o HPV (vírus do papiloma humano) podem levar ao aparecimento de adenocarcinomas e carcinomas cervicais.

Palavras-Chave: proteína ras; neoplasia; saúde da mulher.

RAS PROTEINS: A HIDDEN ENEMY OF WOMEN?

ABSTRACT

The Ras protein family is responsible for regulating cell fate, and for this reason, disturbances in its signaling pathway have the potential to generate cancer. Due this potential, this family is related to the cancers that most affect women in Brazil, being breast, cervical and colorectal, objects of the present work. Changes in the chromosomal instability pathway lead to deletion of p53, which causes the development of colorectal neoplasia. Changes in Ras/MAPK signaling pathway can lead to overexpression of K-Ras, which is related to development of breast cancer. The relationship between silencing the gene that regulates the Ras protein and HPV (human papilloma virus) can lead to the appearance of adenocarcinomas and cervical carcinomas.

Keywords: ras protein; neoplasia; women's health.

INTRODUÇÃO

A família proteica Ras tem como característica principal serem moléculas monoméricas de baixo peso molecular, e possuem função de GTPase, ou seja, conduzem diversos processos celulares, como diferenciação, proliferação e sobrevivência. Existem, até o momento relatado, três genes que codificam as proteínas que compõem a família Ras: N-Ras, H-Ras e K-Ras, que ao serem traduzidos geram quatro isoformas da proteína: N-Ras, H-Ras, K-Ras4A e K-Ras4B, sendo estas duas últimas, resultados de variações do splicing do gene K-Ras. Todas suas isoformas variam de um GTP ativo a um GDP inativo, que ao interagir com outras proteínas, a depender do estado (ativo ou inativo), mudam sua conformação, afetando dois interruptores moleculares na superfície da molécula, conhecidos como Switch I e Switch II, portanto estas duas regiões devem estar em equilíbrio constante, caso haja alguma disrupção na sinalização, esta pode levar ao processo carcinogênico característico desta família proteica (MARÍN-RAMOS; ORTEGA-GUTIÉRREZ; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, 2019).

A depender do estímulo, sendo ele provindo do meio intracelular ou extracelular, a família proteica Ras regula o destino da célula, promovendo sua sobrevivência ou ativando sua morte programada, portanto a presença de perturbações em sua via de sinalização tem potencial altamente deletério, levando a uma expansão exacerbada de uma célula e então a formação de uma neoplasia. Em células que estão em homeostasia, a via de sinalização que promove a sobrevivência celular está envolvida na ativação do receptor de tirosina quinase, através de sua autofosforilação, que resulta na associação de proteínas na membrana plasmática, que dentre elas está a proteína Ras, que devido a presença de fatores estimulantes para a divisão celular, resulta na alteração do Switch de um GDP (forma inativa) para um GTP (forma ativa) possuindo efeitos de sinalização para as vias serina/treonina quinase RAF, MEK e ERK. Intuitivamente pressupõe que este processo pró-sobrevivência leva a inativação de proteínas pró-apoptóticas, como a Caspase-9 (SEXTON et al., 2019)

Como sua função é a regulação do ciclo celular, alterações de interesse na família Ras podem levar a disfunções metabólicas de extrema importância, por exemplo, células neoplásicas que possuem como uma de suas principais mutações o gene codificantes da proteína Ras, podem se apresentar com uma grande requisição de glicose, com isso há ativação da via de sinalização fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K), está estimula a glicólise por meio da ativação da AKT (proteína quinase B), estabilização da HIF-1 e do alvo mecanístico do complexo 1 da rapamicina, formando-se um complexo que suporta a glicólise, a via das pentoses e a biossíntese de nucleotídeos, estes que são essenciais para o desenvolvimento do processo neoplásico. Além disto, estas mutações na proteína Ras aumentam a autofagia e macropinocitose celular para aquisição de macromoléculas e aumentam a resistência ao estresse oxidativo. Porém estas enzimas metabólicas podem ser inibidas por moléculas farmacológicas pequenas, portanto podem ser um caminho para o tratamento de neoplasias com esta etiologia (LV et al., 2015).

Devido ao potencial neoplásico já discutido, essa família é relacionada ao desenvolvimento das neoplasias que mais afetam as mulheres no Brasil, sendo as de maior ocorrência, de acordo com o instituto nacional do câncer (INCA, 2019), a de mama, colorretal e cervical, objetos de estudo do presente trabalho.

METODOLOGIA

A realização do estudo se alicerçará através de levantamentos de dados e revisão bibliográfica utilizando artigos científicos, indexados nas plataformas PUBMED, EMBASE e MEDLINE. Tendo como principal foco artigos contendo informações relevantes que correlacionem proteínas Ras com o desenvolvimento de neoplasias de mama, cervical e colorretal, além de investigar alvos terapêuticos para futuras intervenções farmacológicas para estas neoplasias.

NEOPLASIA DE MAMA

Dentre os tumores malignos que acometem as mulheres, o câncer de mama é o mais frequente e comum. Nacionalmente estimam-se 66.280 novos casos de câncer de mama para cada ano do triênio 2020-2022, estimando o risco de 61,61 casos a cada 100 mil mulheres. Desconsiderando os tumores de pele não melanoma, esse tipo de câncer é o mais frequente nas mulheres das Regiões Sudeste (81,06/100 mil), Sul (71,16/100 mil), Centro-Oeste (45,24/100 mil), Nordeste (44,29/100 mil) e Norte (21,34/100 mil) sendo o segundo tumor mais incidente na Região Norte (BRASIL, 2017; INCA, 2019).

Apesar de serem comumente classificados em quatro subtipos com relevância clínica: luminal A, luminal B, HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) positivo e basal like (basaloide), há até 10 subtipos moleculares de câncer de mama descritos por meio de número de cópias do gene e análise de expressão genica. O conhecimento e estudo dos subtipos moleculares é de grande importância, pois possibilita o desenvolvimento de um tratamento mais eficaz e específico, especialmente em estágios iniciais (HARBECK; GNANT, 2017).

Estudos genômicos indicam que a via envolvendo a proteína K-RAS (EGFR/HER2/K-RAS) está ativada em grande parte das neoplasias mamárias malignas e agressivas. A ativação desta via está intimamente correlacionada com taxa de sobrevivência reduzida e a resistência à terapia. Para avaliar a ativação desta via, podem ser usados os biomarcadores SIAH e EGFR. A taxa de sua expressão pode ser utilizada para quantificar a efetividade terapêutica, determinar respostas tumorais, detectar clones resistentes e prever a sobrevivência no câncer mamário invasivo, visto que os níveis de SIAH e EGFR encontram-se elevados em tumores resistentes a terapias sistêmicas neoadjuvantes, utilizando-se de agentes citotóxicos, endócrinos, ou baseados/direcionados a anticorpos (VAN REESEMA et al., 2016).

Ainda relacionado à proteína K-Ras, foram encontrados, por meio da sequência do genoma e do exoma, um alto número de mutações nas cópias amplificadas em amostras de animais que sofreram mutações de forma a expressarem tumores mamários ER+ dado o nível elevado de prolactina. Testes complementares foram realizados e, em uma amostragem maior (29 animais), 79% destes (23) apresentaram alterações ativando a Ras. Diferindo dos tecidos pré-neoplásicos, nos tumores estabelecidos foram encontradas alterações relacionadas à atividade da Ras em processos intrínsecos celulares envolvendo mitose, adesão celular e invasão, assim como no ambiente ao redor do tumor. Esta análise genômica sugere que tumores desencadeados pela atividade das proteínas Ras podem ser estimulados por níveis exacerbados de prolactina (CAMPBELL et al., 2019).

A proteína R-Ras difere-se do habitual. Sua dosagem elevada não indica mau prognóstico no câncer de mama; pelo contrário. A expressão da proteína R-Ras inibe o crescimento tumoral e sua atividade metastática, ou seja, com a progressão do câncer de mama o nível de expressão da R-Ras encontra-se diminuído de forma gradual. A ativação da R-Ras encontrou-se reduzida em 63,8% dos tecidos neoplásicos quando comparados com tecido mamário saudável. Em conclusão, níveis reduzidos de R-Ras indicam atividade elevada no tecido mamário neoplásico, havendo a possibilidade da perda da ativação da R-Ras estar envolvida na carcinogênese desta patologia (SONG et al., 2014).

O câncer de mama triplo negativo (TNBC - triple negative breast cancer) é o subtipo de neoplasia mamária mais agressivo e menos comum. Sua nomenclatura se dá pela ausência de expressão do receptor de estrogênio, receptor de progesterona e receptores HER2. Os TNBCs compõem um grupo heterogêneo de tumores, tendo maior incidência em mulheres jovens com alguma doença de base que possua alta taxa de reincidência ou morte (GILTANE; BALKO, 2014). Nos TNBCs, após o tratamento com quimioterapia neoadjuvante, um bom prognóstico na doença residual pode ser indicado dada a presença de infiltração linfocitária (TIL - linfócitos infiltrantes de tumor), sendo associado com maior taxa de sobrevida do paciente. Entretanto, alterações genéticas ou transcriptômicas na via

de sinalização Ras-MAPK (mitogen-activated protein kinase) estão relacionadas com níveis mais baixos de TILs e, conseqüentemente, mau prognóstico. Evidências sugerem que a ativação da via Ras-MAPK promove a evasão do sistema imune, diminuindo a expressão de CD3E e suprimindo a resposta inflamatória mediada por citocinas como a $IFN\gamma$, comprometendo a potência da apresentação de antígenos via MHC-I e MCH-II (major histocompatibility complex) (LOI et al., 2015).

NEOPLASIA COLORRETAL

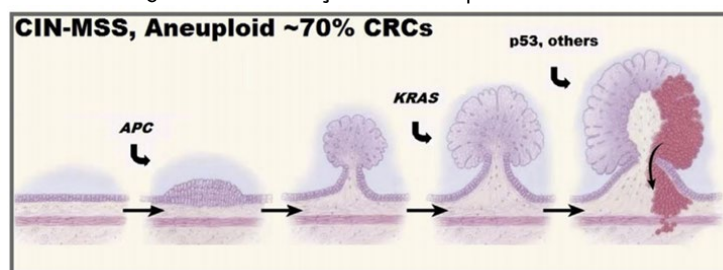
Dentre as mortes causadas por neoplasias, a neoplasia colorretal possui o segundo maior número de casos confirmados nos Estados Unidos. Em 2014 foi projetada uma estimativa de 136,830 casos de indivíduos diagnosticados com câncer colorretal (CRC), dentre estes, 50,310 pacientes viriam a óbito (FAKIH, 2015). No Brasil, estimam-se 20.520 casos de câncer de cólon e reto em homens e 20.470 em mulheres (2020-2022), esses valores correspondem a um risco estimado de 19,63 casos novos a cada 100 mil homens e 19,03 para cada 100 mil mulheres, sendo a terceira neoplasia mais frequente em homens e o segundo entre as mulheres (INCA, 2019).

Dentre os fatores desencadeantes de CRC o maior número de casos era atribuído a fatores ambientais, no entanto a importância dos fatores genéticos e epigenéticos foi comprovada por meio de sequenciamento genético de nova geração em pacientes com CRC em estágio avançado, onde mutações somáticas nos genes K-Ras, N-Ras e BRAF estão presentes em 45% dos casos. As mutações envolvendo o gene K-Ras ocorrem 98,5% das vezes nos códons 12 e 13 do éxon 2, mutações N-Ras ocorrem entre os éxons 2 e 4, e no BRAF cerca de 81,9% das mutações ocorrem no códon 600 (V600E). Estas mutações representam importantes biomarcadores de predileção de resposta para medicamentos anti-receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), as mutações promovem resistência a terapia monoclonal anti-EGFR, e além de perder a sua eficácia o tratamento pode gerar efeitos prejudiciais, por isso a pesquisa das mutações nos genes Ras é essencial para o direcionamento do tratamento de pacientes com CRC (GOUD et al., 2019).

Alterações nos genes da família Ras estão presentes em duas das três grandes vias relacionadas ao desenvolvimento de CRC (CIN, MSI/Lynch e CIMP), as vias CIN e MIN progridem através de uma sequência clássica de carcinomas, enquanto a via CIMP é uma sequência serrilhada de pólio-carcinoma. Para saber qual via está relacionada ao CRC do paciente é necessário analisar a estabilidade dos microssatélites e o estado mutacional do gene K-Ras e BRAF (OBUCH; AHNEN, 2016).

CIN - INSTABILIDADE CROMOSSÔMICA

Figura 1: Evolução da CRC pela via CIN.



Fonte: OBUCH; AHNEN, 2016.

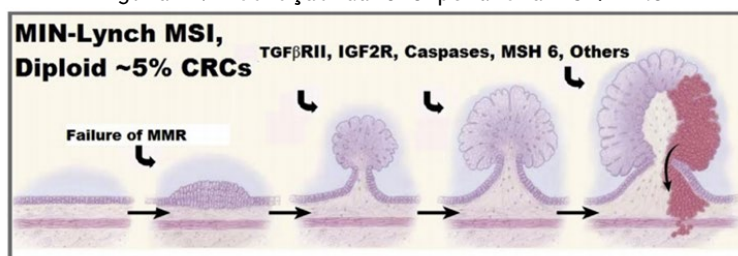
A instabilidade cromossômica é uma alteração genômica de larga escala com alteração numérica ou estrutural nos cromossomos, essa alteração é causada pela perda do p53 e a associação de mutações na K-Ras indica carcinogênese.

A via clássica da CIN começa com a aquisição de mutações no gene APC, seguida pela ativação mutacional do oncogene KRas e a inativação do gene supressor de tumor, o p53. A aneuploidia e a perda de heterozigose são peças-chaves nos tumores relacionados com a via CIN, que não apenas constituem a maioria dos tumores esporádicos (85%), mas também envolvem casos de polipose adenomatosa familiar associados a mutações na linha germinativa no gene APC.

A K-Ras é reguladora da glicólise, seu objetivo é evitar a necrose secundária de células-tronco durante a transformação mediada pelo programa de emergência Blebbishield, já que por meio desse programa as células neoplásicas conseguem evitar a morte celular, utilizando os corpos apoptóticos destas células tronco para formar Blebbishields. O número de cópias do K-RasG12D mutante influencia o metabolismo da glicose e o ciclo TCA para gerar glutatona para desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, reduzindo o pH e aumentando potencialmente a biodisponibilidade do fator de crescimento endotelial do microambiente, contribuindo para a angiogênese no processo de CRC (JINESH et al., 2017).

MSI/LYNC

Figura 2: Evolução da CRC pela via MSI/LYNC



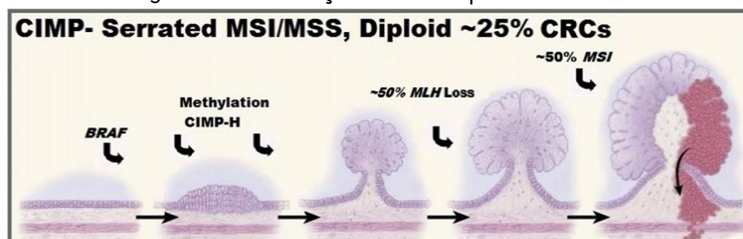
Fonte: OBUCH; AHNEN, 2016.

A via MSI envolve a inativação de alterações genéticas em sequências curtas e repetidas. Essa ativação ocorre nos CRCs nos genes de reparo de incompatibilidade de DNA (ácido desoxirribonucleico) e é uma condição marcante na síndrome de Lynch familiar (LS), a via MSI está envolvida em cerca de 15% de todos os casos de CRC.

A instabilidade dos microssatélites ocorre devido a mutações inativadoras nos genes de reparo de incompatibilidade de DNA responsáveis pela correção dos erros de replicação do DNA. Os componentes importantes do sistema de reparo de incompatibilidade de DNA são as ATPases hMSH2, hMSH6, hMSH3, hMLH1, hPMS2, hPMS1 e hMLH3. As mutações na linha germinativa podem tornar essas proteínas disfuncionais e predispor o desenvolvimento de uma neoplasia, como no caso da LS, não há forte relação desta via com mutações nos genes Ras (TARIQ; GHIAS, 2016).

CIMP

Figura 3: Evolução da CRC pela via CIMP




Fonte: OBUCH; AHNEN, 2016.

A via CIMP é caracterizada pela promoção de hipermetilação de vários genes supressores tumorais, principalmente MGMT e MLH1, causando perda de sua função e levando à formação da neoplasia colorretal. Essa hipermetilação está frequentemente associada à mutação do gene BRAF, essa mutação está presente em 96% dos casos de CRC relacionados com a via CIMP, outro fator relacionado a hipermetilação é a instabilidade de microssatélites. Como a instabilidade dos microssatélites está presente tanto na via CIMP quanto na MSI, a detecção de mutações no gene BRAF é importante para diferenciação de CRC causada pela síndrome de Lynch e não relacionada a síndrome de Lynch (TARIQ; GHIAS, 2016).

NEOPLASIA CERVICAL

A neoplasia de colo uterino consiste em uma das maiores causas de óbito dentro da população feminina no território brasileiro, sendo responsável, de acordo com o INCA, por 6.385 óbitos no ano de 2017 e taxa de mortalidade de mortalidade bruta de 6,17/100 mil, além disto é estimado que haja cerca de 16.590 novos casos de neoplasias de colo do útero no triênio 2020-2022, ocupando o terceiro lugar das neoplasias de maior incidência no país (INCA, 2019).

Figura 4: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 em mulheres, exceto pele não melanoma.



	Localização Primária	Casos	%
Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
	Cólon e reto	20.470	9,2%
	Colo do útero	16.590	7,4%
	Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
	Glândula tireoide	11.950	5,4%
	Estômago	7.870	3,5%
	Ovário	6.650	3,0%
	Corpo do útero	6.540	2,9%
	Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
	Sistema nervoso central	5.220	2,3%

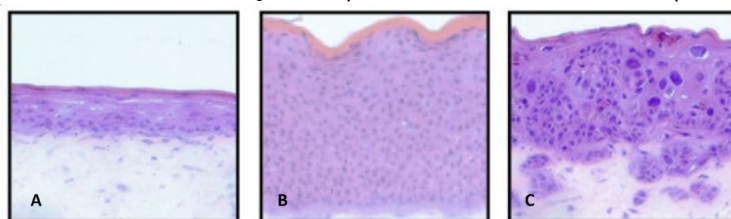
Fonte: Adaptado de INCA (2019).

Dentre as causas da neoplasia de colo uterino, a infecção pelo HPV (vírus do papiloma humano) apresenta um papel de grande destaque no desenvolvimento deste tipo específico de neoplasia, dentre os HPVs de relevância que desencadeiam o processo neoplásico, temos os HPVs de alto risco, estes possuem o mecanismo de integração de seu genoma de forma completa na célula hospedeira, por exemplo o HPV-16 e HPV-18, que associado aos seus genes de regulação sobre metabolismo celular da célula hospedeira e alterações epigenéticas, podem levar ao aparecimento da neoplasia de colo uterino, dentre as alterações relatadas, a proteína Ras está envolvida neste processo, pelo mecanismo de silenciamento do gene que a codifica, geralmente pelo mecanismo de hipermetilação de promotores, que pode junto ao HPV levar ao aparecimento de adenocarcinomas e carcinomas cervicais (FANG; ZHANG; JIN, 2014).

Sabendo-se que o gene codificante das proteínas Ras é classificado como proto-oncogene e o aparecimento de suas variantes mutadas e/ou amplificadas são encontradas em diversas malignidades (cerca de 20% de todas as neoplasias humanas), e sua função de regular a proliferação e migração celular pela ativação da MAPK, PI3K e pela via de sinalização Rac/Rho, pode-se afirmar que a presença das alterações nos genes codificantes levam a alterações do metabolismo celular, que associado a infecção pelo

HPV resulta numa disfunção do ciclo celular, justamente pela ativação da proteína Ras que leva ao aumento da expressão, devido ao aumento da sinalização intracelular e, posterior, ativação da transcrição gênica, dos oncogenes E6 e E7, que somados possuem como produto final uma cooperação na progressão da lesão intraepitelial cervical, além desta problemática associada, a ativação do gene E7 do HPV e sua interação com a proteína H-Ras, leva a expressão de metaloproteases de matrix que estão envolvidas no escape do sistema imunológico dos queratinócitos imortalizados pela ação transformativa do HPV (YOSHIDA et al., 2008).

Figura 5: Os efeitos da ativação da proteína Ras em células que expressam E7.



Fonte: Adaptado de Yoshida (2008).

É possível observar na figura 5A o controle utilizado pelo estudo, na figura 5B é somente a expressão da oncoproteína E7 do HPV e na figura 5C é visto a associação entre a ativação da proteína Ras com a expressão da oncoproteína E7, logo, é notável a transformação maligna presente na associação entre ambos os fatores.

No estudo executado por Jiang et al. (2018), por meio de análise molecular foi possível descobrir quais papéis a proteína K-Ras tem no desenvolvimento da neoplasia de colo uterino, sendo relatado como importante para a progressão e, principalmente, o processo de metástase. A proteína K-Ras fisiologicamente possui função de GTPase, regulando de forma expressiva a diferenciação celular, proliferação e sobrevivência celular, porém é relatado que durante o processo carcinogênico é possível detectar mutações de importância no gene codificante desta proteína, sendo caracterizado pelo estudo como a segunda mutação mais aparente neste tipo de neoplasia; dentre os achados do estudo, é relatado que a mutação ocorre nos éxons 2, 3 e 4 do gene codificante, onde mutações na região que compreende o resíduo G12 são as mais comuns. Também é relatado uma correlação entre mutações na proteína Ras com infecções prévias pelo HPV-18 (classificado como HPV de alto risco).

De acordo com Zhang et al. (2014), a hipermetilação do promotor RASSF2A gera um silenciamento e/ou diminuição da expressão do gene supressor tumoral, associados a isso temos mutações pontuais no gene que codifica a proteína K-Ras, gerando a ativação das vias de sinalização intracelulares mediada pela família Ras, o que pode levar a indução de expressão dos genes E6 e E7 do HPV, indução de ciclinas A e B e mediar o estímulo de crescimento de queratinócitos imortais pelo fator de necrose tumoral alfa; outro mecanismo é que a ativação da H-Ras supera a ação antiproliferativa e antitransformativa da proteína p53, sendo esta um dos principais alvos de degradação dos genes do HPV; ou seja, de maneira geral, a associação de alterações epigenéticas e a presença do HPV auxiliam no processo carcinogênico.

Uma outra hipermetilação de promotores é correlacionada com o gene RASSF1, que possui função chave na regulação da apoptose, porém a hipermetilação de seu promotor leva a redução da expressão de seu produto (RASSF1A), assim indicando um fator epigenético de importância para a desregulação das vias de sinalização mediada pela proteína Ras, sendo encontrada essa alteração em diversas malignidades, incluindo neoplasias cervicais, segundo o estudo de Feng et al. (2014), a presença da hipermetilação deste promotor dentro da população do estudo foi de 10, 20 e 45% para as respectivas malignidades, carcinoma de células escamosas, adenocarcinomas e carcinoma

adenocarcinoma, ou seja, indica que o silenciamento deste supressor tumoral desencadeia, em associação a outros fatores, o aparecimento de alterações neoplásicas na região cervical.

Uma problemática que é associada às vias de sinalização Ras, como é elucidado por Su et al. (2012), é que estas vias são integrantes da proliferação e conferem radioresistência para as células neoplásicas, onde proteínas K-Ras de origem oncogênica geram a predisposição necessária para que células radioresistentes sofram metástases com mais facilidade, e devido à resistência à radiação é notada dificuldade no tratamento; Foi mostrado também neste estudo que doses subletais de radiação aprimoram o potencial metastático destas células e este fenômeno é mediado pela sinalização K-Ras/c-Raf/p38.

Ainda acerca da radiosensibilidade conferida pelas proteínas Ras, é descrito por Huang et al. (2012), que há uma forte relação entre a proteína Galectina-1 e a proteína H-Ras, onde a Galectina estabiliza a ligação da forma ativa da proteína H-Ras (podendo também interagir com a isoforma ativa K-Ras, porém com menor expressividade) com duas vias de sinalização, Raf-1 e PI3K, o que gera, de acordo com o estudo, um aumento substancial na resistência das células neoplásicas cervicais frente à exposição a doses de radiação, que é mediado por dois mecanismos envolvendo a interação entre a Galectina-1 e a H-Ras, que são a ativação da reparação do DNA e a hipóxia tumoral.

ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

As proteínas Ras são de grande relevância para a sobrevivência e sinalização de maturação das células, e por isso, aparecem mutadas em neoplasias, auxiliando no estímulo exacerbado das células oncogênicas, incitando sua duplicação. É devido a essa característica que essa família de proteínas possui grande potencial no papel de alvo terapêutico, já que podem ser utilizadas diversas técnicas com o objetivo de impedir ou refrear a proliferação neoplásica, como inibição da expressão da proteína e bloqueio de sua ação fisiológica (FRIDAY; ADJEI, 2005).

Apesar da possibilidade de se utilizar técnicas para inibir Ras ou os mediadores da via Ras, essa abordagem se demonstra muito desafiadora uma vez que existe a abundância celular relativa do substrato da proteína (GTP) e pela sua alta afinidade, portanto encontrar moléculas que possam competir com o sítio de ligação se mostra muito custoso, além disso, existe a aparente falta de superfície nessa família proteica para ligação de moléculas pequenas (KEETON; SALTER; PIAZZA, 2017).

É importante indicar que, embora existam diversos tipos de Ras, como a H-Ras, N-Ras e, a mais estudada e pesquisada, K-Ras, as mesmas possuem características e funções semelhantes e são vistas como um grande conjunto, fazendo com que, até o presente momento, todos os tratamentos em estudo não façam distinção entre essas proteínas, já que as mesmas possuem cerca de 85% de homologia entre si (LIM et al., 2013).

Entretanto, a síntese de drogas com proteínas Ras como alvo ainda não ocorreu uma vez que se demonstra necessário a especificidade para a Ras envolvida na patogênese, visto que drogas que bloqueiam todas as 4 isoformas Ras (H-Ras, N-Ras, K-Ras4A, K-Ras4B), baseando em estudos, é provável que estas demonstrem níveis inaceitáveis de toxicidade (MCCORMICK, 2015).

No estudo de Drosten et al. (2010), com a utilização de fibroblastos embrionário de ratos, pode-se observar que a Ras é necessária para motilidade celular e migração, mas não é necessária para a sobrevivência da célula, uma vez que as células permaneciam vivas na cultura não apresentavam mais os eventos completos da mitose e não se moviam, além destas perderem plasticidade de membrana. No artigo de McCormick (2015), a remoção total dos genes Ras leva a letalidade embrionária, enquanto a perda de H-Ras e N-Ras pode ser tolerada em ratos.

Um dos principais métodos em estudo é a o uso de inibidores da proteína RAF, sendo a mesma parte central da cascata da Ras, e, quando inibida, impede a formação de MEK e, conseqüentemente, ELEK, que pode ativar proteínas quinases citosólicas ou fosforilar quinases dentro do núcleo celular, impedindo a ativação de genes que regulam o crescimento e multiplicação celular. O ISIS-5132, um oligonucleotídeo de 20 bases fosforotioato de DNA, tem a capacidade de bloquear a expressão da proteína RAF, bloqueando assim toda a cascata Ras e a evolução neoplásica. Um dos fármacos que utilizam esse mecanismo é o Sorafenib, usado para o tratamento de carcinoma renal avançado, e que já possui sua eficácia comprovada in vitro na contenção de neoplasias e angiogênese para múltiplas oncogêneses, contudo ainda estão sendo realizados estudos para que a atuação dessas drogas seja com maior especificidade e atuação in vivo (SANTARPIA; LIPPMAN; EL-NAGGAR, 2012).

Outro método de interromper a cascata formada pelas proteínas Ras é a inibição da proteína MEK, tendo consequência semelhante a relatada no método anterior, e, portanto, impedindo angiogênese e o desenvolvimento e proliferação de oncogêneses. Existem vários compostos que inibem essa proteína a partir da fosforilação da mesma, como U0126 e PD 098059, e, apesar de terem comprovação de sua ação in vitro e com a utilização de animais, ainda não são usados na terapêutica, todavia, estão em fases finais de testes clínicos em humanos (SANTARPIA; LIPPMAN; EL-NAGGAR, 2012).

Algumas possibilidades terapêuticas estão descritas no artigo de McCormick (2016), como por exemplo, mutações no sítio GTPase impedem a hidrólise do GTP e reduzem a atividade da GTPase, com estudos demonstrando compostos eletrofílicos que se ligam ao sítio GTP e bloqueiam a proteína Ras em seu estado inativo, o que impede sinalização downstream, baseando-se nisso, estratégias podem ser realizadas para que compostos sintéticos tenham GTPases como alvo. Outra possibilidade terapêutica é a via de ativação e inativação da proteína Ras, como por exemplo, a proteína SOS1, que regula a proteína Ras, quando se liga ao seu sítio, os níveis de GDP passam a aumentar, permitindo a troca de GTP por GDP na ligação com a Ras, o que pode apresentar uma oportunidade para ligação competitiva de um nucleotídeo análogo que possa inibir a função da proteína.

Ressalta-se que, apesar de existirem diversas possibilidades de tratamentos com o uso das proteínas da família Ras como principal alvo terapêutico, e que, mesmo que alguns desses estudos tenham sua eficácia comprovada in vitro, atualmente não existem, na clínica, terapias que utilizem essas técnicas, pois ainda há muitos fatores a serem descobertos em relação a função e estrutura dessas proteínas individualmente, fármacos que possam agir como supressores funcionais ou bloqueadores de síntese, além de comprovação in vivo destes poucos testes já realizados (FRIDAY; ADJEI, 2005).

Alguns dos desafios encontrados na procura por estratégias terapêuticas com alvo na Ras são citados no artigo de McCormick (2016) sendo estes: a superfície da Ras não apresenta sítios de ligação para drogas, além desta ser muito semelhante dentre as proteínas da família Ras; encontrar um análogo do GTP se mostra muito difícil uma vez que GDP e GTP têm alta afinidade à Ras; a remoção de Ras é capaz de provocar ativação de mecanismos que impedem a morte celular; na imunoterapia, peptídeos Ras mutantes não são apresentados eficientemente pelo MHC; células tumorais são capazes de variar sua dependência nas Ras por sobrevivência. Além disso, a estrutura das proteínas Ras consiste num domínio G altamente conservado e uma cauda hipervariável que está envolvida com funções específicas de cada isoforma Ras, os primeiros 80 aminoácidos do domínio G são idênticos dentre H-Ras, K-Ras e N-Ras, além de serem muito semelhantes quando comparados à família de proteínas Rap, que não apresentam as mesmas funções, e por este motivo, se torna arriscado utilizar o domínio G como alvo.

Portanto, conclui-se que as proteínas Ras representam comprovadamente um grande avanço nas pesquisas referentes a controle e erradicação de neoplasias, e espera-se que em poucos anos já possam estar sendo utilizadas efetivamente na terapêutica como supressores tumorais ou em associação com outros tratamentos (LIM et al., 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como discutido no presente trabalho, a família proteica Ras tem seu envolvimento com a patogênese de diversas neoplasias, com as neoplasias de maior ocorrência em mulheres no Brasil, mama, colorretal e cervical, sendo o objeto de estudo do presente trabalho. Trabalhos demonstraram evidências em relação a alterações nas vias da família Ras, que podem ocasionar o aparecimento de neoplasias ou maior agressividade em neoplasias já instaladas.

As proteínas Ras têm grande futuro na terapêutica, com diversas possibilidades de alvos de ação, conferindo um grande passo no tratamento de neoplasias que envolvam Ras. Entretanto, muitas dificuldades são encontradas nas pesquisas de fármacos com essa finalidade e por esse motivo, drogas ainda não foram postas no mercado. Estudos ainda são necessários, visto que nem todos os mecanismos de ação da Ras estão descritos, ou partículas Ras-like, além disso, por ser responsável pelos eventos de diferenciação, proliferação e sobrevivência da célula, alterar a ação dessas proteínas é de grande risco.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. 2018. ed. Brasília: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2018. 130 p. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- CAMPBELL, Katie M. et al. A Spontaneous Aggressive ER α + Mammary Tumor Model Is Driven by Kras Activation. *Cell Reports*, [s.l.], v. 28, n. 6, p.1526-1537, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.098>.
- DROSTEN, Matthias et al. Genetic analysis of Ras signalling pathways in cell proliferation, migration and survival. *The Embo Journal*, [s.l.], v. 29, n. 6, p.1091-1104, 11 fev. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/emboj.2010.7>
- FAKIH, Marwan G. Metastatic Colorectal Cancer: Current State and Future Directions. *Journal of Clinical Oncology*, [s.l.], v. 33, n. 16, p.1809-1824, jun. 2015. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2014.59.7633>.
- FANG, Jinchuan; ZHANG, Hai; JIN, Sufang. Epigenetics and cervical cancer: from pathogenesis to therapy. *Tumor Biology*, [s.l.], v. 35, n. 6, p.5083-5093, 20 fev. 2014. Springer Science and Business Media LLC.
- FENG, Lei et al. RASSF1A Suppresses Proliferation of Cervical Cancer Cells. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, [s.l.], v. 15, n. 14, p.5917-5920, 30 jul. 2014. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention.
- FRIDAY, Bret B.; ADJEI, Alex A.. K-ras as a target for cancer therapy. *Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Reviews On Cancer*, [s.l.], v. 1756, n. 2, p.127-144, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2005.08.001>.
- GILTANE, Jennifer M; BALKO, Justin M.. Rationale for Targeting the Ras/MAPK Pathway in Triple-Negative Breast Cancer. *Discov Med.*, [s.l.], v. 17, n. 95, p.275-283, maio 2014.
- GOUD, Kala Irvathy et al. Positive Correlation Between Somatic Mutations in RAS Gene and Colorectal Cancer in Telangana Population: Hospital-Based Study in a Cosmopolitan City. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, [s.l.], 2 set. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-019-03119-6>.

- HARBECK, Nadia; GNANT, Michael. Breast cancer. *The Lancet*, [s.l.], v. 389, n. 10074, p.1134-1150, mar. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31891-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31891-8).
- HUANG, E-y et al. A novel radioresistant mechanism of galectin-1 mediated by H-Ras-dependent pathways in cervical cancer cells. *Cell Death & Disease*, [s.l.], v. 3, n. 1, p.251-263, jan. 2012. Springer Science and Business Media LLC.
- INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2019. 122 p.
- JIANG, Wei et al. Mutational analysis of KRAS and its clinical implications in cervical cancer patients. *Journal Of Gynecologic Oncology*, [s.l.], v. 29, n. 1, p.1-10, 2018. Asian Society of Gynecologic Oncology; Korean Society of Gynecologic Oncology and Colposcopy (KAMJE).
- JINESH, G G et al. Molecular genetics and cellular events of K-Ras-driven tumorigenesis. *Oncogene*, [s.l.], v. 37, n. 7, p.839-846, 23 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2017.377>.
- KEETON, Adam B.; SALTER, E. Alan; PIAZZA, Gary A.. The RAS-Effector Interaction as a Drug Target. *Cancer Research*, [s.l.], v. 77, n. 2, p.221-226, 6 jan. 2017. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-0938>
- KIESSLING, Michael K. et al. Mutant HRAS as novel target for MEK and mTOR inhibitors. *Oncotarget*, [s.l.], v. 6, n. 39, p.42183-42196, 3 nov. 2015. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.5619>
- LIM, Sang Min et al. Therapeutic Targeting of Oncogenic K-Ras by a Covalent Catalytic Site Inhibitor. *Angewandte Chemie International Edition*, [s.l.], v. 53, n. 1, p.199-204, 20 nov. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201307387>.
- LOI, Sherene et al. RAS/MAPK Activation Is Associated with Reduced Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple-Negative Breast Cancer: Therapeutic Cooperation Between MEK and PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint Inhibitors. *Clinical Cancer Research*, [s.l.], v. 22, n. 6, p.1499-1509, 29 out. 2015. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-15-1125>.
- LV, Jing et al. The greedy nature of mutant RAS: a boon for drug discovery targeting cancer metabolism?. *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, [s.l.], p.1-10, 19 out. 2015. Oxford University Press (OUP).
- MARÍN-RAMOS, Nagore I.; ORTEGA-GUTIÉRREZ, Silvia; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, María L.. Blocking Ras inhibition as an antitumor strategy. *Seminars In Cancer Biology*, [s.l.], v. 54, p.91-100, fev. 2019. Elsevier BV.
- MCCORMICK, F.. KRAS as a Therapeutic Target. *Clinical Cancer Research*, [s.l.], v. 21, n. 8, p.1797-1801, 14 abr. 2015. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-14-2662>
- MCCORMICK, Frank. K-Ras protein as a drug target. *Journal Of Molecular Medicine*, [s.l.], v. 94, n. 3, p.253-258, mar. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00109-016-1382-7>
- OBUCH, Joshua C.; AHNEN, Dennis J. Colorectal Cancer. *Gastroenterology Clinics of North America*, [s.l.], v. 45, n. 3, p.459-476, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gtc.2016.04.005>.
- SANTARPIA, Libero; LIPPMAN, Scott M; EL-NAGGAR, Adel K. Targeting the MAPK-RAS-RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opinion On Therapeutic Targets*, [s.l.], v. 16, n. 1, p.103-119, jan. 2012.

SEXTON, Rachel E. et al. Ras and exosome signaling. *Seminars In Cancer Biology*, [s.l.], v. 54, p.131-137, fev. 2019. Elsevier BV.

SONG, Jie et al. Negative association of R-Ras activation and breast cancer development. *Oncology Reports*, [s.l.], v. 31, n. 6, p.2776-2784, 2 abr. 2014. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/or.2014.3121>.

SU, Wen-hong et al. Radiation-Induced Increase in Cell Migration and Metastatic Potential of Cervical Cancer Cells Operates Via the K-Ras Pathway. *The American Journal Of Pathology*, [s.l.], v. 180, n. 2, p.862-871, fev. 2012. Elsevier BV.

TARIQ, Kanwal; GHIAS, Kulsoom. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. 2016. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4850121/>>.

VAN REESEMA, Lauren L. Siewertsz et al. SIAH and EGFR, Two RAS Pathway Biomarkers, are Highly Prognostic in Locally Advanced and Metastatic Breast Cancer. *Ebiomedicine*, [s.l.], v. 11, p.183-198, set. 2016. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.014>.

YOSHIDA, S. et al. Ras Modifies Proliferation and Invasiveness of Cells Expressing Human Papillomavirus Oncoproteins. *Journal Of Virology*, [s.l.], v. 82, n. 17, p.8820-8827, 25 jun. 2008. American Society for Microbiology.

ZHANG, Xian et al. Aberrant promoter methylation and silencing of RASSF2Gene in cervical cancer. *Journal Of Obstetrics And Gynaecology Research*, [s.l.], v. 40, n. 5, p.1375-1381, 9 mar. 2014. Wiley.