

IMUNOTERAPIA EM NEOPLASIA MAMÁRIA METASTIZADA

ANTICORPO MONOCLONAL HER2¹

Ana Silva

Aluna de Análises Clínicas

Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

13501@ufp.pt

Mariana Soares

Aluna de Análises Clínicas

Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

13585@ufp.pt

Cátia Guedes

Aluna de Análises Clínicas

Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

13509@ufp.pt

Actualmente as terapêuticas tradicionais para neoplasias com grande invasão tecidual, não são suficientes, optando-se cada vez mais por estratégias de imunoterapia, dependendo, claro, das características do tumor e do próprio sistema imunitário.

A imunoterapia com anticorpos monoclonais, mais especificamente o Trastuzumab, dirigido para a neoplasia metastizada da mama, cujos tumores primários apresentam amplificação do HER2/neu tem apresentado grande eficácia, proporcionando uma melhoria significativa na qualidade de vida e prolongando a vida das doentes com formas agressivas de cancro da mama.

¹ Artigo revisto pela Prof. Doutora Sandra Clara Soares (FCS- Grupo de Imunologia) e pela Prof. Doutora Carmen Jerónimo (FCS e Centro de Investigação do Instituto Português de Oncologia do Porto).

1. CANCRO DA MAMA

O cancro da mama é a forma de cancro mais comum na mulher. As taxas de incidência têm vindo a subir e calcula-se que uma em cada dez mulheres irão desenvolver cancro da mama ao longo da sua vida (<http://www.iarc.fr/>).

Se a doença é detectada precocemente, antes de progredir atingindo outros tecidos para além da mama, a taxa de sobrevivência pode chegar a 95% ao fim dos 5 anos (Page e Anderson, 1987; Elston e Ellis, 1998).

Os factores de risco, para o desenvolvimento de cancro da mama incluem: exposição a agentes cancerígenos, predisposição genética, alterações hormonais ou uso de determinados contraceptivos orais, não ter filhos ou ter o primeiro filho após os 30 anos (figura 1). Além disso uma história menstrual longa, resultado de uma menarca precoce ou de uma menopausa tardia, aumenta o risco de cancro (Bonadonna *et al.*, 1998).

Uma vez detectada a presença do tumor através do autoexame, palpação mamária ou mamografia, esta pode ser confirmada pelo médico anátomo-patologista, recorrendo à análise histológica e/ou citológica de material por biópsia aspirativa ou microbiópsia.

Os tratamentos disponíveis são a cirurgia para remoção do tumor, a quimio-

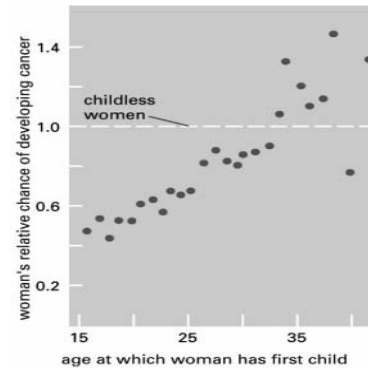


Fig.1 Relação entre a idade da mulher no nascimento do primeiro filho e o risco de desenvolver cancro da mama (Lodish *et al.*, 2002)

terapia, a radioterapia, a terapêutica hormonal/ hormonoterapia e a imunoterapia, nomeadamente a terapêutica com anticorpos monoclonais.

2. HER2/NEU

O gene ERB2 está mapeado no cromossoma 17q21.1-17q21.1 e codifica uma glicoproteína transmembranar de 185 kD, designada por p185^{HER2}, que é uma tirosina-cinase. Este gene pertence à família dos proto-oncogenes, o que significa que embora a proteína HER2 tenha um papel regulador do crescimento nas células com funcionamento normal, um erro genético pode eventualmente contribuir para o desenvolvimento do cancro (<http://www.gdb.org/gdb>).

A proteína HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor – Type 2) exis-

tente na membrana celular transmite sinais que modelam o crescimento celular, desde o exterior da célula até ao núcleo.

Em indivíduos saudáveis existem duas cópias do gene *HER2/neu* por cada célula, as quais produzem uma quantidade adequada da proteína na superfície celular. No entanto, em células neoplásicas da mama, por vezes o gene encontra-se amplificado o que resulta no aumento da transcrição e consequentemente à produção excessiva da proteína HER2 (sobre-expressão). O excesso desta proteína nas células envia sinais à própria célula para que esta se divida e cresça mais rapidamente, o que se traduz na ocorrência e progressão do cancro, isto é em formas clinicamente mais agressivas da neoplasia (Hayes, 2000) (Figura 2).

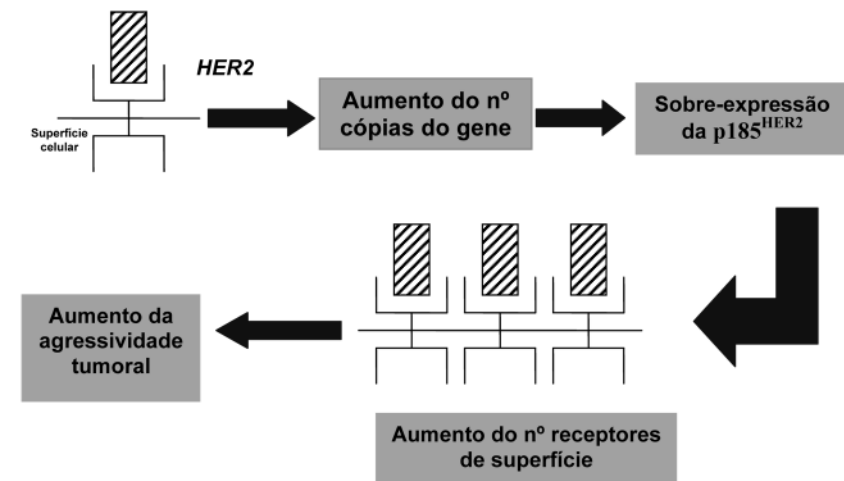


Fig.2 Amplificação do gene *HER2/neu*, conducente à sobre-expressão, e sua consequência oncogénica.

A HER2 pertence a uma família de 4 receptores de factor de crescimento, intimamente relacionados, designados por HER1, HER2, HER3 e HER4, com capacidade estimulatória do crescimento. Existem duas classes conhecidas de ligandos desta família de receptores: os ligandos do tipo EGF (epidermal growth factor)² e as neuregulinas³.

² Factor de crescimento epidérmico.

³ As neuregulinas são uma família de factores críticos para o desenvolvimento do sistema nervoso, do sistema neuromuscular e do coração; estão também envolvidas em doenças do sistema nervoso e na propagação do cancro.

A glicoproteína HER parece existir sob a forma de monómeros sobre a superfície celular. Estes monómeros ao formarem dímeros tornam-se receptores activos, que são estabilizados por ligação ao ligando. Pode ocorrer dimerização entre moléculas idênticas de receptores (um homodímero) ou entre diferentes membros da família de receptores HER (heterodímero). A HER2 forma preferencialmente heterodímeros HER1/HER2 frequentemente transactivados por ligandos do tipo EGF, e HER2/HER3 e HER2/HER4 transactivados por ligandos do tipo neuregulinas (Leonard *et al.*, 2002).

A ligação heterodimérica, incluindo a proteína HER2, conduz à activação intrínseca da proteína Tirosina cinase A; ocorre auto-fosforilação da tirosina em resultado da ligação ao ligando, desencadeando uma série de eventos em cascata que resultam na transmissão de sinais através da membrana celular e através do espaço intracelular até ao núcleo. A posterior activação dos genes alvo conduz à estimulação mitogénica (Hobday e Perez, 2005; Ménard *et al.*, 2000).

Adicionalmente, foi demonstrado que o domínio extracelular do receptor HER2 pode ser libertado na corrente sanguínea, podendo ser determinada a sua concentração sérica de forma a monitorizar-se a resposta ao tratamento com transtuzumab (Fehm *et al.*, 2004).

3. DIAGNÓSTICO

Vários estudos verificaram que glicoproteína HER 2 está sobre-expressa em 25-30% de neoplasias da mama e que, destes, 90% apresentam amplificação do gene ERB2 (Kallioniemi *et al.*, 1992). Tendo-se igualmente observado que os doentes cujos tumores apresentam sobre-expressão do ERB2, têm um tempo de sobrevida sem doença menor do que os doentes que não apresentam essa característica (Robinson *et al.*, 2004).

Assim, determinar o *status* do ERB2 da doente é um dado importante na decisão a tomar sobre as melhores opções de tratamento para o cancro da mama, bem como, qual o prognóstico (Horton, 2002).

Actualmente os métodos usados para a determinação do *status* do ERB2 são a imunohistoquímica que avalia a expressão da proteína nas células neoplásicas e a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), que determina o número de cópias do gene ERB2. O primeiro método é mais rápido, e relativamente simples de executar com equipamento geralmente disponível em qualquer laboratório de Anatomia Patológica, enquanto que a análise por FISH é mais específica e sensível utilizando amostras de tecido mais reduzidas: infelizmente, a maioria dos laboratórios não estão equipados para avaliar o *status* do ERB2 usando o FISH.

Assim na prática clínica, a primeira abordagem é a análise imunohistoquímica, em que o patologista procede a uma avaliação semi-quantitativa da intensidade da imunoreactividade de acordo com os critérios apresentados na Tabela 1; posteriormente e no casos em que a classificação atribuída é $\geq 2+$ deve-se proceder à análise por FISH.

A análise por FISH é assim o "gold standard" para a avaliação do *status* HER2 providenciando uma melhor correlação com a resposta clínica do paciente à terapêutica com trastuzumab (Masood e Bui, 2002).

Tabela 1. Sistema de classificação recomendado para avaliar o padrão de intensidade do ensaio imunohistoquímico. (INT, 2004)

Classificação da Intensidade da coloração	Padrão de imunoreactividade	Avaliação da sobre-expressão HER2
0	Não se observa coloração ou observa-se coloração da membrana em $\leq 10\%$ das células tumorais	Negativa
1+	Detecta-se uma coloração ligeira/quase imperceptível da membrana $\rightarrow 10\%$ das células tumorais. Apenas parte da membrana celular se encontra corada.	Negativa
2+	Detecta-se uma coloração completa, fraca a moderada da membrana $\rightarrow 10\%$ das células tumorais.	Sobre-expressão fraca a moderada
3+	Detecta-se uma coloração completa, moderada a forte, da membrana $\rightarrow 10\%$ das células tumorais	Sobre-expressão moderada a forte

4. TERAPÊUTICA COM ANTICORPOS MONOCLONAIS

Um anticorpo monoclonal anti-tumoral é uma proteína sintética desenhada expressamente para atingir células cancerosas específicas no organismo. Actua bloqueando a função de um determinado gene alvo potencialmente cancerígeno e, idealmente, não interfere com outros genes ou proteínas produzidas, mantendo-se a integridade e funcionalidade de células saudáveis. Se tal não acontecer a exposição a esse mesmo anticorpo poderá, a longo prazo, ter consequências adversas.

O trastuzumab, cujo nome comercial é Herceptin®, é um anticorpo monoclonal IgG1 recombinante, produzido a partir de uma linhagem celular de ratinho posteriormente humanizado dirigido contra do receptor-2 do factor de crescimento epidérmico humano (HER2).

Em ensaios *in vitro* e estudos em modelo animal, o trastuzumab demonstrou inibir a proliferação de células tumorais humanas com sobre-expressão do HER2.

O trastuzumab é um mediador potente da citotoxicidade mediada por anticorpos (ADCC – *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*). Em estudos *in vitro*, a ADCC mediada pelo trastuzumab, tem demonstrado exercer-se, preferencialmente, nas células neoplásicas com sobre-expressão do HER2, comparativamente com células neoplásicas que não apresentam sobre-expressão do HER2 (Repka *et al.*, 2003).

Ainda, relativamente à actuação do trastuzumab no sistema imunitário, este é capaz de atrair para o local de ligação, células citotóxicas NK- Natural Killer Cells, que “reconhecem” e lisam de maneira eficiente as células tumorais que expressam a HER2 (Uherek *et al.*, 2002).

Vários ensaios clínicos têm sido feitos para avaliação da sua eficácia como forma de tratamento de neoplasias da mama metastizadas (Jones e Leyland-Jones, 2004).

Dados relativos a um estudo realizado com 3387 doentes submetidas a tratamento com trastuzumab referem uma redução de 46% de risco de recorrência da doença durante um ano. No entanto, não foram obtidas diferenças estatisticamente significativas, relativamente à sobrevivência global entre o grupo de doentes que foi tratado com trastuzumab e o que foi submetido a quimioterapia (Hampton, 2005). Embora estes resultados sejam bastante encorajadores, será necessário um maior tempo de “follow-up” das doentes submetidas a este tratamento, bem como terão que ser realizados estudos sobre efeitos tóxicos associados a esta terapêutica.

5. TOXICIDADE

Os efeitos secundários do trastuzumab, nomeadamente, no que se refere à cardiotoxicidade não são bem conhecidos. Estudos preliminares, sugerem que o uso deste anticorpo causa disfuncionalidade mitocondrial nos cardiomiócitos, induzindo inapropriadamente a cascata de eventos que conduzem à apoptose destas células, podendo, resultar na falência do miocárdio (Grazette *et al.*, 2004).

Outros estudos demonstram que existe um risco acrescido de insuficiência cardíaca quando se administra trastuzumab associado a determinados quimioterápicos, tal como a antraciclina e a ciclofosfamida (Horton, 2002).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bonadonna, G., Hortobagyi, N., Gianni, A. (1998). *Textbook of Breast Cancer – A Clinical Guide to Therapy*. Ed Martin Dunitz, USA

Elston, C. e Ellis I. (1998) *The breast*. Edinburgh, Churchill Livingstone

Fehm, T. *et al.* (2004) Changes of serum HER2 status during clinical course of metastatic breast cancer patients *In: Anticancer Res.* Vol 24 (6), pp. 4205-4210.

Gene ERB2. Disponível em <http://www.gdb.org/gdb-bin/genera/genera/hgd/GenomicSegment?!action=query&displayName=her2> [consultado em 01/09/2005]

Grazette, L. *et al.* (2004) Inhibition of ErbB2 Causes Mitochondrial Dysfunction in Cardiomyocytes *In: Journal of the American College of Cardiology*, Vol 44, nº 11, pp. 2231-2238.

Hampton, T. (2005) Monoclonal Antibody Therapies Shine in Breast Cancer clinical Trials *In: JAMA*, 22/29, Vol. 293, nº24, pp. 2985-2989.

Hayes, D. (2000). *Atlas of Breast Cancer*. 2ª ed. Aventis, UK

Hobday, T., Perez, E. (2005) Molecular Targeted Therapies for Breast Cancer *In: Cancer Control*, Vol. 12, nº2, pp. 73-81.

Horton, J. (2002). Trastuzumab Use in Breast Cancer: Clinical Issues *In: Cancer Control*. Vol 9, nº6, pp. 499-507.

IARC. Disponível em <http://www.iarc.fr/ENG/Press - Releases/pr167a.html> [consultado em 02/07/2005]

Índice Nacional Terapêutico (2004). Herceptin. TUPAM Ed. pp1578-81

Jones, Alison J., e Leyland-Jones, Brian. (2004) Optimizing Treatment of HER2- Positive Metastatic Breast Cancer *In: Seminars in Oncology* 31, pp. 29-34.

Kallioniemi, O. *et al.* (1992) ERBB2 amplification in breast cancer analyzed by fluorescence in situ hybridization *In: Proc Natl Acad Sci USA*. 89, pp. 5321-5325.

Leonard, D. *et al.* (2002) Anti-human epidermal growth factor receptor 2 monoclonal antibody therapy for breast cancer *In: British Journal of Surgery*. 89, pp. 262-271.

Lodish *et al.* (2002) *Molecular Biology of the Cell*. 4ªed. Garland Publishing, New York

Masood, S. e Bui, M.(2002) Prognostic and Predictive value of HER2/neu Oncogene in Breast Cancer *In: Microscopy Research and Technique*, 59, pp. 102-108.

Ménard, S. *et al.* (2000) Role of HER2 Gene Overexpression in Breast Carcinoma *In: Journal of Cellular Physiology* 182, pp. 150-162.

Page DL, Anderson TJ. (1987) *Diagnostic histopathology of the breast*. Edinburgh: Churchill-Livingstone,UK

Repka, T. *et al.* (2003) Trastuzumab and Interleukin-2 in HER2-positive Metastatic Breast Cancer: A Pilot Study *In: Clinical Cancer Research*, Vol 9, pp. 2440-2446.

Robinson, M., Weiner, L., Adams, G. (2004) Improving Monoclonal Antibodies for Cancer Therapy *In: Drug Development Research* 61, pp. 172-187.

Uherek, C. *et al.* (2002) Retargeting of natural-killer-cell cytolytic activity to ErbB2-expressing cancer results in efficient and selective tumor cell destruction *In: Blood*, Vol 100, nº4, pp. 1265-1273.

AGRADECIMENTOS

À Dr^a Sandra Clara Soares – FCS /UFP e à Dr^a Fernanda Milanezi – IPATIMUP, pela orientação, apoio, incentivo e total disponibilidade demonstradas.

À Dr^a Carmem Jerónimo – FCS/UFP e Centro de Investigação-IPO, pela atenção, interesse e colaboração prestada.