

Bases moleculares e efeitos de retinóides em células tumorais

Silvia Lima Costa ¹

Resumo

Os retinóides são um grupo de substâncias reguladoras do crescimento que incluem o ácido *trans*-retinóico (tRA), um derivado metabólico natural da vitamina A (retinol), o seu isômero 9-*cis* (cAR) e uma série de derivados naturais ou sintéticos. O tAR exerce efeitos importantes durante o desenvolvimento embrionário de vertebrados e na vida adulta, e desempenham papéis importantes na modulação do crescimento de células normais e tumorais, através da regulação da diferenciação ou apoptose. As atividades biológicas dos tAR e o cAR são mediadas através da ligação e ativação receptores nucleares específicos (RAR_{α,β,γ}) e receptores X de retinóides (RXR_{α,β,γ}). Esses receptores são produtos de genes distintos, pertencem à superfamília de receptores nucleares de hormônios esteróides e atuam como reguladores de transcrição dependente do ligante. Essas moléculas são objeto de vários estudos científicos e clínicos que estão baseados tanto em suas propriedades químicas quanto em seu potencial em induzir apoptose e (ou) diferenciação celular, constituindo, assim, uma alternativa em potencial para o tratamento de diversas formas de câncer. Os avanços no conhecimento sobre a ativação dos RARs e RXRs deu origem uma nova geração de retinóides sintéticos, os quais têm demonstrado igualmente uma ação efetiva contra células cancerígenas de diferentes origens, seja inibindo o crescimento, seja induzindo apoptoses ou diferenciação celular.

Palavras-chave: Retinóides. Câncer. Apoptose. Diferenciação celular. Quimioterapia.

INTRODUÇÃO

No domínio do tratamento de cânceres, os estudos desenvolvidos nas últimas três décadas estiveram concentrados principalmente sobre o desenvolvimento de substâncias citotóxicas. No entanto, ainda que tenha havido algum progresso na quimioterapia de alguns tipos de câncer, o prognóstico de pacientes portadores de tumores invasivos e metastásicos ainda permanece reservado.

Os avanços mais recentes na compreensão da biologia do câncer revelam que as células cancerígenas apresentam vários níveis de diferenciação e que existe, frequentemente, uma relação inversa entre o grau de diferenciação dessas células e o potencial de agressividade do tu-

mor (WARREL JR et al., 1997). Acontece que a utilização de certos agentes capazes de induzir diferenciação permitiu observar a associação da maturação morfológica de algumas células e uma redução de sua capacidade proliferativa. Como conseqüência, essas substâncias podem inverter ou suprimir as lesões na vizinhança de tumores e também impedir sua progressão (SPORN et al., 1976; LIPPMAN; BENNER; HONG, 1994; MOON; MEHTA; RAO et al., 1994; LOTAN, 1996). Assim, os agentes capazes de induzir diferenciação constituem uma alternativa potencial aos tratamentos convencionais que utilizam compostos citotóxicos. Os retinóides são um grupo de substâncias reguladoras do

¹ Professora de Bioquímica, Instituto de Ciências da Saúde - UFBA,

Correspondência para / Correspondence to:

Silvia Lima Costa

Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular. Departamento de Biofunção.

Instituto de Ciências da Saúde - UFBA

Vale de Canela s/n sala 400

40.110-100 - Salvador-Bahia-Brasil.

Telefone (71) 3245-8602.

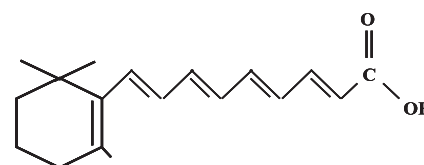
E-mail: costasl@ufba.br

crescimento, que incluem o ácido *trans*-retinóico (tRA) e uma série de derivados naturais sintéticos. Essas moléculas são objeto de vários estudos científicos e de protocolos experimentais clínicos, que estão baseados tanto em suas propriedades químicas quanto em seu potencial em induzir apoptose e (ou) diferenciação celular (SPORN; ROBERTS; DEWITT, 1994; LOTAN, 1996; ALTUCI; GRONEMEYER, 2001; COSTA et al., 2001). Nesta revisão, abordaremos as informações reunidas acerca dos estudos mais recentes sobre a genética dos receptores dos retinóides, seu metabolismo e mecanismos de sinalização, sobre os efeitos de retinóides naturais e sintéticos em células tumorais de diferentes origens, e sobre a função dos receptores nucleares e suas relações com os diferentes efeitos dos retinóides e aplicações para tratamento de diferentes formas de câncer.

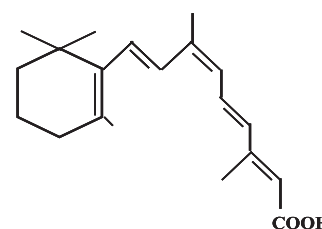
GENÉTICA, METABOLISMO E MECANISMO DE AÇÃO DE RETINÓIDES

Os retinóides naturais são uma classe de compostos que incluem o retinol ou vitamina A, o ácido *trans*-retinóico (tAR) e seu isômero ácido 9-*cis*-retinóico (9cAR) (FIGURA 1), bem como uma série de derivados que desempenham um importante papel sobre o crescimento, a proliferação e a diferenciação celular (DE LUCA, 1991; SPORN; ROBERTS; DEWITT, 1994). Essa diversidade de ações dos retinóides, a regulação do crescimento celular e a diferenciação de células normais, pré-malignas e malignas, parecem ser o resultado de seus efeitos sobre a expressão gênica, que está correlacionada com a complexidade de seus efeitos em diferentes níveis na transdução de sinal intracelular. A existência de várias isoformas do ácido retinóico, cuja síntese pode ser modulada de forma específica segundo o tipo de célula, representa o primeiro nível dessa complexidade de ação (NAPOLI, 1996).

No plasma, o retinol e o ácido *trans*-retinóico (tAR) estão associados, respectivamente, às proteínas de ligação (RBP-*retinol binding proteins*) e à albumina, que desempenham uma função de transporte. Devido às suas proprie-



Ácido *trans*-retinóico



Ácido 9- *cis* - retinóico

Figura 1 – Estrutura química de retinóides de ocorrência natural

dades hidrófobas, os retinóides aparentemente entram nas células por simples difusão. O metabolismo celular dessas moléculas depende de proteínas de ligação aos retinóides, bem como de enzimas citossólicas e microsomais, responsáveis pela transformação dos diferentes retinóides e pela síntese do AR. Seis enzimas estão implicadas no metabolismo dos retinóides: a lectina retinol aciltransferase (LRAT), a retinil éster hidrolase (REH), as retinol desidrogenases citossólicas e microsomais (cRoDH e mRoDH), a retinal desidrogenase e os citocromos P450. (BLOMHOFF, 1994; NAPOLI, 1996).

O segundo nível de complexidade na transdução de sinal dos retinóides implica as proteínas de ligação. Existem dois tipos de proteínas de ligação ao tAR dentro da maioria das células: as proteínas celulares de ligação do ácido retinóico I e II (CRABP-*cellular retinoid acid binding proteins*), que são proteínas pequenas de alta afinidade pelo tAR (GIGUÈRE, 1994; BLANER; OLSON, 1994). Essas proteínas apresentam um perfil de expressão específico e são altamente conservadas nos vertebrados, apresentando uma grande homologia na composição e seqüência de aminoácidos (SPORN;

ROBERTS; DEWITT, 1994; GIGUÈRE, 1994). Embora a importância dessas proteínas seja ainda mal definida, alguns estudos sugerem que elas estariam implicadas no transporte do tAR para o núcleo (BOYLAN; GUDAS, 1991), enquanto outros estudos sugerem que elas poderiam facilitar o metabolismo do tAR em derivados mais polares e, desse modo, regular a concentração intracelular de tAR disponível para os receptores nucleares (FIORELLA; NAPOLI, 1991; BLANER; OLSON, 1994; NG et al., 1995).

A atividade biológica dos retinóides está ligada à sua interação com receptores nucleares específicos, e estudos genéticos mostram que a mais importante fonte de diversidade na transdução de sinal dos retinóides é a existência de dois tipos de receptores dos retinóides: os receptores do ácido retinóico (RAR-*retinoid acid receptors*) e os receptores de retinóides x (RXR-*retinoid x receptors*). Esses receptores já foram bem caracterizados nas células humanas. Eles pertencem à superfamília dos receptores dos esteróides, dos hormônios tireoidianos e da vitamina D, e apresentam três isotipos α , β e γ , cada um com diferentes isoformas. Esses isotipos são produtos de genes diferentes, e cada um apresenta um perfil de expressão espaço-temporal diferente durante o desenvolvimento embrionário, que varia em função do tipo celular (MANGELSDORF; UMESONO; EVANS, 1994; CHAMBON, 1996; BASTTIEN; ROCHETTE-EGLY, 2004).

Os genes que codificam para os diferentes isotipos e isoformas dos receptores dos retinóides apresentam diferentes localizações cromossômicas, e as seqüências gênicas dos RARs são mais próximas nas diferentes espécies de ver-

Genes	Principais isoformas	Localizações cromossômicas (1)	Ligantes
RAR α	$\alpha 1, \alpha 2$	17q21.1	Tout - <i>trans</i>
RAR β	$\beta 1, \beta 2, \beta 3, \beta 4$	3p24	et
RAR γ	$\gamma 1, \gamma 2$	12q13	9- <i>cis</i> AR
RXR α	$\alpha 1, \alpha 2$	9q34.3	
RXR β	$\beta 1, \beta 2$	6q21.3	9- <i>cis</i> AR
RXR γ	$\gamma 1, \gamma 2$	1q22 -q23	

(1) Em humanos

Quadro 1 – Os receptores do ácido retinóico (RAR) e os receptores x de retinóides

tebrados que as seqüências gênicas dos RXRs (MATTEI et al., 1988a, 1988b; ISHIKAWA et al., 1990; MATTEI et al., 1991; HOOPES et al., 1992) (QUADRO 1). Cada isotipo de receptor apresenta, ainda, um perfil de expressão constitutiva espaço-temporal diferente durante o desenvolvimento embrionário, o que permite supor que cada um possa ter funções específicas (KASTNER; MARK; CHAMBON, 1995). Tais funções implicam, provavelmente, o controle da expressão de uma subclasse de RNAm, regulada durante o processo de diferenciação celular (LEID; KASTNER; CHAMBON, 1995).

As seqüências de aminoácidos dos RARs e RXRs comportam seis regiões (A-F), identificadas pela homologia entre os receptores dos retinóides e outros membros da família dos receptores nucleares. Em cada uma das proteínas RAR e RXR, existem dois domínios de ativação de transcrição, capazes de influenciar a atividade de diferentes elementos promotores de resposta ao tAR (FIGURA 2). O primeiro

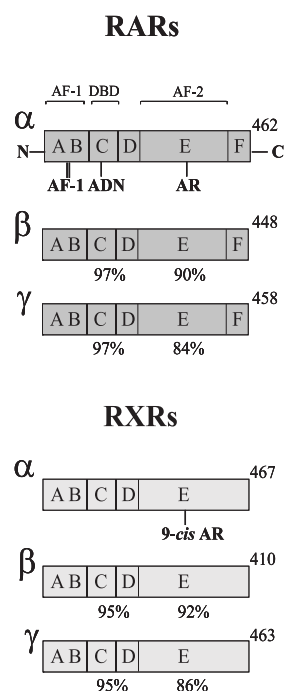


Figura 2 – Estrutura dos genes que codificam as diferentes isoformas de receptores de retinóides RARs e RXRs

Notas: AF-1 e AF-2: domínios de transativação
LBD: domínio de ligação do ligante
ADN: domínio de ligação do DNA.

domínio de ativação (AF-1, *activation factor-1*) está localizado na região aminoterminal A/B. O segundo domínio de ativação está localizado na região carboxiterminal (região F) e apresenta um domínio de ligação do ligante (LBD- *ligand binding domain*), uma função de ativação de transcrição dependente do ligante (AF-2), intervindo igualmente no deslocamento para o núcleo e na dimerização dos receptores. A região C é uma região de ligação ao DNA (DBD- *DNA binding domain*), que contém duas seqüências em dedos de zinco, formadas por uma sucessão de radicais de cisteína ligados por átomos de zinco. Essa região é conservada, qualquer que seja o receptor nuclear de retinóides, e se liga aos elementos de resposta ao tAR no DNA (CHAMBON, 1996). As funções das regiões D e F são atualmente desconhecidas.

A atividade biológica dos retinóides está ligada à sua interação com seus receptores nucleares. Os dois retinóides naturais, t-AR e 9c-AR, apresentam diferentes afinidades pelos receptores: o t-AR se liga somente aos RARs; por outro lado, o 9c-AR se liga tanto aos RARs quanto aos RXRs (GUDAS; SPORN; ROBERTS, 1994; KASTNER; MARK; CHAMBON, 1995; CHAMBON, 1996).

O ácido retinóico (tAR) pode ativar igualmente os RXRs através de sua isomerização em 9c-AR, o que é possível em células vivas (HEYMAN et al.,1992). A interação do ligante com o receptor nuclear induz uma dimerização, e esse complexo, sobretudo na forma de heterodímeros RAR/RXR, liga-se a seqüências específicas do DNA, conhecidas como elementos de resposta ao tAR (RAREs, *retinoic acid responsive elements*), e ativa ou reprime a expressão de genes alvos (GIGUÈRE, 1994; MANGELSDORF; UMESONO; EVANS, 1994; LEID; KASTNER; CHAMBON, 1995; NAPOLI, 1996).

Um último nível de complexidade na resposta celular aos retinóides consiste na existência de uma possibilidade de interação ou “ação cruzada” entre RARs e RXRs com vários coativadores (mediadores de transcrição) e (ou) correpressores (CHAMBON, 1996). Nesse sentido, aparentemente os efeitos dos retinóides sobre a proliferação e a diferenciação se efetuam principalmente através da indução ou repressão de genes que codificam os fatores de crescimento como TGF- β (SPORN; ROBERTS, 1991), componentes da matriz extracelular como laminina B1 e fibronectina (VASIOS et al.,

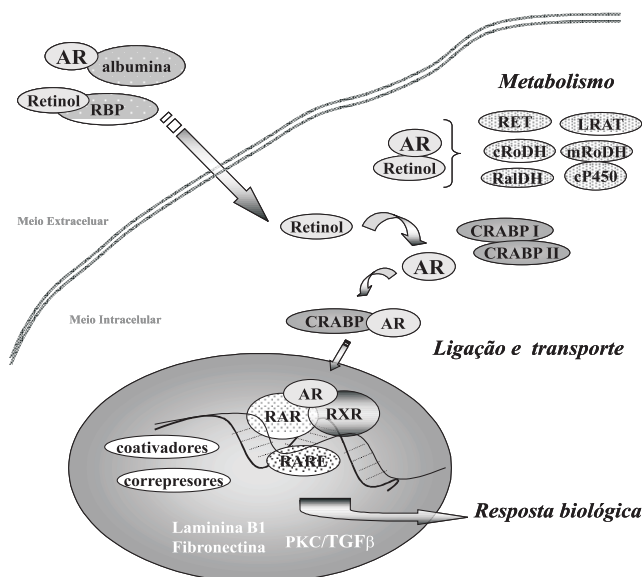


Figura 3 – Representação esquemática do metabolismo e do mecanismo de ação de retinóides

Notas: LRAT: lectina retinol aciltransferase

REH: retinil éster hidrolase cRoDH e mRoDH: retinol desidrogenases citossólicas e microsossomais

RalDH: retinal desidrogenase; RAREs, elementos de resposta de retinóides.

1991) e moléculas implicadas na sinalização intracelular, como a proteína cinase C (KHURI; CHO; TALMAGE, 1996) e proteínas cinases dependentes do AMP cíclico (SCHEIBE; GINTY; WAGNER, 1991). A Figura 3 representa, de forma esquemática, o mecanismo de ação sugerido de retinóides.

EFEITOS DE RETINÓIDES NATURAIS SOBRE CÉLULAS TUMORAIS

As células respondem a certos sinais através da ativação de sua proliferação, a outros sinais pela diferenciação e, ainda, induzindo sua própria morte. A compreensão das cascatas de eventos intracelulares iniciados pela ligação do ácido retinóico, seu isômero 9c-AR, e mesmo moléculas análogas, com os receptores nucleares dos retinóides, ainda é limitada. Entretanto, estudos recentes mostram que, nos diferentes tipos de células tumorais, a presença de um ou vários tipos de receptores dos retinóides pode ser essencial para induzir um efeito sobre a proliferação celular, a indução de morte por apoptose e ainda diferenciação.

Ação sobre o ciclo celular

Para melhor compreender a ação de retinóides sobre a proliferação de células tumorais, estudos foram efetuados sobre a cinética do ciclo celular em presença dessas moléculas. Nas células em proliferação, a progressão através do ciclo celular é regulada inicialmente pelo grau de atividade de cinases dependentes de ciclinas (CDKs, *ciclin dependent kinases*) que atuam nas diferentes fases (G0/G1, S e G2), e cujas atividades são controladas por seus níveis de fosforilação, pela concentração de subunidades reguladoras e por inibidores específicos (THOMAS et al., 1996).

Estudos *in vitro* têm revelado que, em função do tipo de célula tumoral, o efeito do tAR e outros retinóides sobre a proliferação celular está associado à regulação de diferentes ciclinas. Como exemplo, podemos citar a indução pelo tAR de um acúmulo de células na fase G0/G1 nas linhagens celulares MCF-7 e T47 de carcinoma de seio, acompanhada de uma

diminuição da atividade da CDK4/ciclina D, e na linhagem de células leucêmicas HL-60 (MANGIAROTTI et al., 1998; TERUI et al., 1995). Por outro lado, em um estudo com células de glioblastoma multiforme humano das linhagens GL-15 e 8MG-BA tratadas com tAR, observamos que essas células acumulam na fase S do ciclo celular, na qual CDK2/ciclina-E intervém na progressão da proliferação das células (PAILLAUD et al., 2002).

O tAR pode também intervir na proliferação celular através de mediadores conhecidos como STATs (*signal transducers and activators of transcription*). Essas moléculas são fatores de transcrição citoplasmáticos latentes que mediam a ação de citocinas e fatores de crescimento, entre esses citocinas da família da interleucina-6 (IL-6), G-CSF (*granulocyte-colony stimulatinfactor*), EGF (*epidermal growth factor*) e leptina (LEVI, 1997). Sob a ativação por tais moléculas, as STATs tornam-se ativadas através da fosforilação de radicais de tirosina, por proteínas conhecidas como JAKS (*Janus kinases*), e então deslocam-se para o núcleo, onde ativam genes alvo. Com efeito, em um estudo recente, demonstramos que a interferência do tAR na proliferação de células de glioblastoma humano depende da fosforilação e ativação de STAT-3 (PAILLAUD et al., 2002).

Apoptose

A apoptose é um processo diretamente associado ao ciclo celular. Existem evidências de que o início da fase G1 do ciclo celular poderia ser o ponto de “encruzilhada” entre a progressão do ciclo celular e a indução de apoptose (WALKER et al., 1993). A apoptose consiste em uma seqüência ordenada de fenômenos bioquímicos, moleculares e estruturais que conduzem à morte celular. As características morfológicas da apoptose incluem a condensação da cromatina, a fragmentação nuclear associada a clivagens endonucleotídicas do DNA, a vacuolização e a invaginação da membrana, o que conduz à retração celular e, finalmente, à formação de corpos apoptóticos.

Uma vez deflagrada, a apoptose parece evoluir para um processo ou uma via central dirigida para a morte celular, em que proteases

específicas são ativadas para destruir as células (FISHER, 1994; WHITE et al., 1996). Assim, vários estudos mostram que produtos dos genes da família Bcl-2 (bcl-2, bcl-X, bax, A1, mcl-1, bad, bak, BAC-1) e a ação de cisteína proteases, conhecidas pelo nome de “caspases”, desempenham um papel essencial na regulação positiva ou negativa da apoptose.

A ativação de caspases pode ser iniciada através de vias de sinalização mediadas por receptores de membrana celular (via receptores), ou por via mitocondrial (PEPPER; BENTLEY; HOY, 1996; THOMAS et al., 1996). A sinalização da apoptose via receptores tem início através de ligantes indutores de morte (*DIL-death-inducing ligands*) ligados a receptores denominados “de morte” (DIL-R), pertencentes à superfamília do receptor do fator de necrose tumoral (*TNF-tumor necrosis factor*), tais como CD95 (APO-1/Fas). Essa ligação leva a uma agregação dos receptores e ao recrutamento de moléculas adaptadoras como FADD (*Fas-associated death domain*) e caspase-8, formando um complexo indutor de sinalização de morte (*DISC-death inducing signaling complex*). A caspase-8 torna-se ativada após o recrutamento e propaga a apoptose através da clivagem direta de caspases efetoras abaixo na cascata de amplificação de sinal. A via mitocondrial é iniciada pela liberação de fatores apoptogênicos no citossol, tais como o citocromo c, o fator de indução de apoptose (*AIF-apoptosis inducing factor*), a endonuclease G, a caspase-2 ou a caspase-9. A liberação do citocromo c pela mitocôndria resulta na ativação da caspase-3, através da formação do complexo citocromo c/Apaf-1/caspase-9-apoptosomo. Existe também a possibilidade de conexões entre as vias de sinalização: a ativação da caspase-8 pode levar à clivagem de Bid (BH3 com um domínio de proteínas da família Bcl-2), e os produtos da clivagem induzem as mitocôndrias a liberarem citocromo c, iniciando-se novamente a cascata de sinalização via mitocôndria. A clivagem de caspase-6, induzida pela mitocôndria, pode, ainda, regular positivamente a indução via receptor através da clivagem da caspase-8. A Figura 4 resume os principais eventos moleculares

da apoptose (DE MURCIA; MÉNISSIER DE MURCIA, 1994; KORSMEYER, 1995; MIYASHITA; REED, 1995).

Com efeito, estudos com células leucêmicas demonstraram que a proteína bcl-2 estaria superexpressa e implicada nos mecanismos anti-apoptóticos, facilitando a sobrevivência das células (PEPPER; BENTLEY; HOY, 1996; THOMAS et al., 1996). Por outro lado, a alteração da expressão de bax, uma proteína antagonista, homóloga de bcl-2, pode, de fato, ser importante para a sobrevivência dessas células (REED et al., 1987; HOCKENBERY et al., 1990; HUA et al., 1992; KORSMEYER, 1992). A razão bcl-2/bax é um fator determinante da resistência ou susceptibilidade das células tumorais aos agentes terapêuticos. Como a maioria dos agentes quimioterápicos mata as células tumorais através da indução de apoptose, os níveis de expressão total das proteínas bcl-2 e bax poderiam influenciar a aptidão das células em entrarem em apoptose (REED et al., 1995).

Estudos realizados com o nematódeo *C. elegans* mostraram a presença de genes implicados na indução (*ced-3, ced-4*) ou no bloqueio (*ced-9*) do programa de apoptose (HENGARTNER; HORVITZ, 1994). Nos mamíferos, o gene homólogo de *ced-9* é a proteína bcl-2, a qual inibe a apoptose e aumenta, assim, a sobrevivência celular. Em contraste, o homólogo de *ced-3*, a enzima interleucina-1B-convertease (ICE ou caspase-1) e CPP32 (caspase-3) são cisteína proteases que induzem a apoptose, clivando substratos intracelulares (GAGLIARDINI et al., 1994; ALNEMRI et al., 1996; SCHLEGEL et al., 1996). Entre os substratos das caspases, podemos destacar a enzima poli-(ADP-ribose) polimerase (PARP) e as laminas ativas durante a fase de execução do processo de apoptose (KAUFMANN et al., 1993; LAZEBNIK et al., 1995).

Foi demonstrado que o tAR induz a apoptose de células cancerosas de várias origens, envolvendo tanto proteínas da família Bcl-2 quanto caspases. Entre essas células, podemos citar células de carcinoma embrionário (ATENCIA et al., 1994; CLIFFORD et al., 1996), células de leucemia mieloblástica aguda

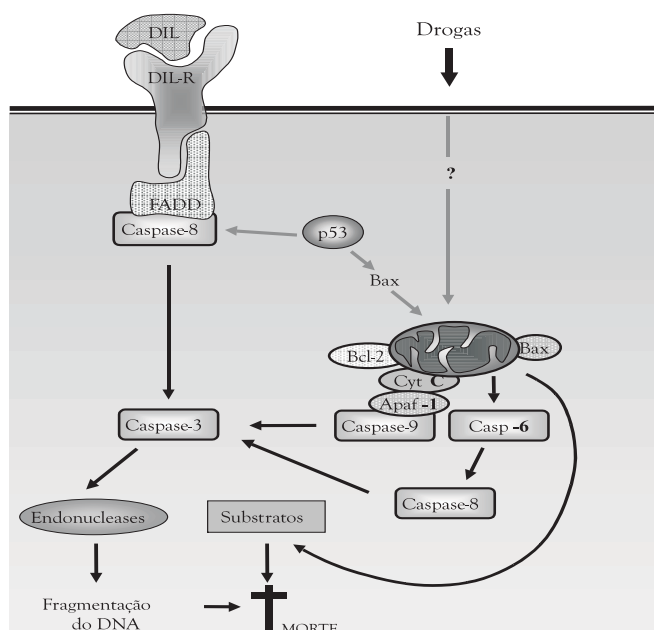


Figura 4 – Representação esquemática de possíveis mecanismos de ativação das vias de apoptose em terapia anticâncer. Nota: A ativação de caspases pode ser iniciada através de vias de sinalização, mediada por receptores e membrana plasmática (via receptores), ou por via mitocondrial. A sinalização da apoptose via receptores tem início através de ligantes indutores de morte (DIL-death-inducing ligands) a receptores denominados “de morte” (DIL-R), pertencentes à superfamília do receptor do fator de necrose tumoral (TNF-*tumor necrosis factor*), tais como CD95 (APO-1/Fas). Essa ligação leva a uma agregação dos receptores e recrutamento de moléculas adaptadoras como FADD (Fas-associated death domain) e caspase-8, formando um complexo indutor de sinalização de morte (DISC-death inducing signaling complex). A caspase-8 torna-se ativada após o recrutamento e propaga a apoptose através da clivagem direta de caspases efetoras abaixo na cascata de amplificação de sinal. A via mitocondrial é iniciada pela liberação de fatores apoptogênicos no citosol, tais como o citocromo c, o fator de indução de apoptose (AIF-*apoptosis inducing factor*), a endonuclease G, a caspase-2, ou a caspase-9. A liberação do citocromo c pela mitocôndria resulta na ativação da caspase-3 através da formação do complexo citocromo c/Apaf-1/caspase-9-apoptosoma. Ainda, a clivagem de caspase-6, induzida pela mitocôndria, pode regular positivamente a indução via receptor através da clivagem da caspase-8.

(ZHENG et al., 1997), células de carcinoma escamoso (ORIDATE et al., 1998), células leucêmicas humanas (CARPENTIER et al., 1998), células de teratocarcinoma (HERGET et al., 1998), bem como de células de glioblastoma multiforme humano (CHAMBAUT-GUÉRIN et al., 2000; COSTA et al., 2002). Atualmente, mais de dez caspases diferentes são conhecidas e, entre elas, a caspase-3 parece ser a melhor candidata como protease implicada na morte celular induzida pelos retinóides em células tumorais (WATSON et al., 1997; PIEDRAFITA; PFHAL, 1997; MOLOGNI et al., 1999; COSTA et al., 2001). Nesse contexto, a indução de apoptose pode ser

considerada como um dos mecanismos pelos quais os retinóides são capazes de inibir o crescimento tumoral.

Diferenciação

Além da proliferação e da apoptose, o terceiro processo celular importante é a diferenciação. Como já foi dito, a ação sobre a diferenciação celular está entre os efeitos clássicos dos retinóides. O AR é um dos primeiros agentes morfogênicos conhecidos, e, durante a embriogênese, um excesso ou um déficit em retinóides pode inibir significativamente as estruturas derivadas do mesênquima (THALLER; EICHELE, 1987; MORRIS-KAY; SOKOLOVA, 1996).

No que diz respeito aos ensaios terapêuticos em cânceres, o tratamento com tAR já permitiu uma remissão completa de leucemias promielocíticas agudas, por um mecanismo de diferenciação das células (WARREL JR et al., 1991; CHEN et al., 1991). Estudos *in vitro* mostram ainda que o tAR poderia induzir uma diferenciação de células de neuroblastoma (GIANNINI et al., 1997), bem como de células de teratocarcinoma (HERGET et al., 1998). Na maior parte dos casos, o tAR atua inibindo a proliferação celular e induzindo a diferenciação das células tumorais. Com efeito, a inibição da proliferação, geralmente reversível, poderia estar dissociada da capacidade em induzir diferenciação, irreversível nas células tumorais já estudadas, tais como células leucêmicas da linhagem HL-60 e células de teratocarcinoma. Um mecanismo de ação comum precoce poderia estar na origem da ação do AR e poderia conduzir as células seja à inibição da proliferação, seja à diferenciação, ou ainda a outros tipos de resposta como a apoptose (QUADRO 2).

FUNÇÃO DOS RECEPTORES RARs E RXRs E EFEITOS DOS RETINÓIDES EM CÉLULAS CANCERÍGENAS

A compreensão da cascata de eventos intracelulares, iniciados pela ligação do tAR com os receptores aos retinóides, ainda é limitada. Estudos recentes mostram que, nos diferentes tipos de células tumorais, a presença e regulação de um ou vários tipos de receptores aos retinóides pode ser essencial para induzir uma resposta biológica e um efeito antiproliferativo, apoptótico e (ou) diferenciador nessas células. Assim, em função do tipo celular, a indução de RAR α pode estar associada à diferenciação ou a um efeito antiproliferativo e à apoptose; a indução de RXR α pode, por outro lado, estar associada à apoptose; e a indução de RAR γ pode estar associada a um efeito antiproliferativo do tAR (NAGY et al., 1995; MEHTA et al., 1996; ORIDATE et al., 1996; CLIFFORD et al., 1996). Interessantemente, ao analisar o efeito

Efeitos	Tipo de Câncer	Linhagens	Retinóide
Inibição da Proliferação	Câncer de ovário	HOC-7; OVCAR	9cAR
	Câncer do Seio	MCF-7; T47	tAR
	Câncer do Seio	T-47D; SKBR-3	9cAR
	Câncer gástrico	MGC80-3	tAR
	Carcinoma de pulmão	HBE	tRA
	Leucemia	HL-60	tRA
Apoptose	Câncer do seio	MCF-7	tAR
	Leucemia promielocítica	UF-1	tAR
	Glioblastoma	GL-15; 8MG-BA	tAR
	Carcinoma embrionário	F9	tAR
	Leucemia mieloblástica	OU-AML3; OU-AML7	tAR
	Leucemia	HL-60	tAR
	Teratocarcinoma	PCC7-Mz1	tAR
Diferenciação	Leucemia promielocítica	UF-1	tAR
	Leucemia	HL-60	tRA+LiCl
	Neuroblastoma	KCNR	9cAR/tAR
	Teratocarcinoma	PCC7-Mz1	tAR

Quadro 2 – Efeitos de retinóides naturais em células cancerígenas de diferentes origens.

do tAR em células de glioblastoma multiforme humano, observamos que, acompanhada da inibição da proliferação celular, e da indução de diferenciação ou da indução de apoptose, a expressão de dois dos isotipos de receptores RAR α (RAR α 1 e RAR α 2) e do isotipo RAR β 2 foi fortemente induzida pelo tAR (COSTA et al., 2002; PAILLAUD et al., 2002). Esse achado ressalta que uma relação entre esses tipos de receptores poderia ser um elemento fundamental na indução seja de efeito diferenciador eficaz, seja de uma apoptose nestas células.

Esses dados mostram claramente que a inibição da proliferação, induzida por retinóides, pode estar ligada à apoptose em algumas situações, mas pode também ser independente desse fenômeno. É possível que, nessa última situação, a indução de apoptose seja o efeito predominante. O que conduz as células a entrar em apoptose ou se diferenciarem não está ainda claramente definido, mas é provável que isso de-

penda da fase do ciclo celular e da presença de outros fatores intra ou extracelulares (FIGURA 5). Ainda que resultados obtidos com retinóides naturais no tratamento ou prevenção de certos tipos de câncer recentes mostrem ser significativos, os retinóides naturais tAR, 9cAR ou 13-cAR demonstraram produzir efeitos secundários importantes. (FRANKEL et al, 1992; DEFER et al., 1997)

AGONISTAS SELETIVOS DE RARs E RXRs NA TERAPIA DE CÂNCER

Após a descoberta dos receptores nucleares dos retinóides e de seus papéis nos diferentes efeitos induzidos por essas moléculas em alguns tipos de células tumorais, vários esforços foram dirigidos para a síntese e caracterização de novos retinóides que possuíssem diferentes perfis de seletividade, podendo se ligar e

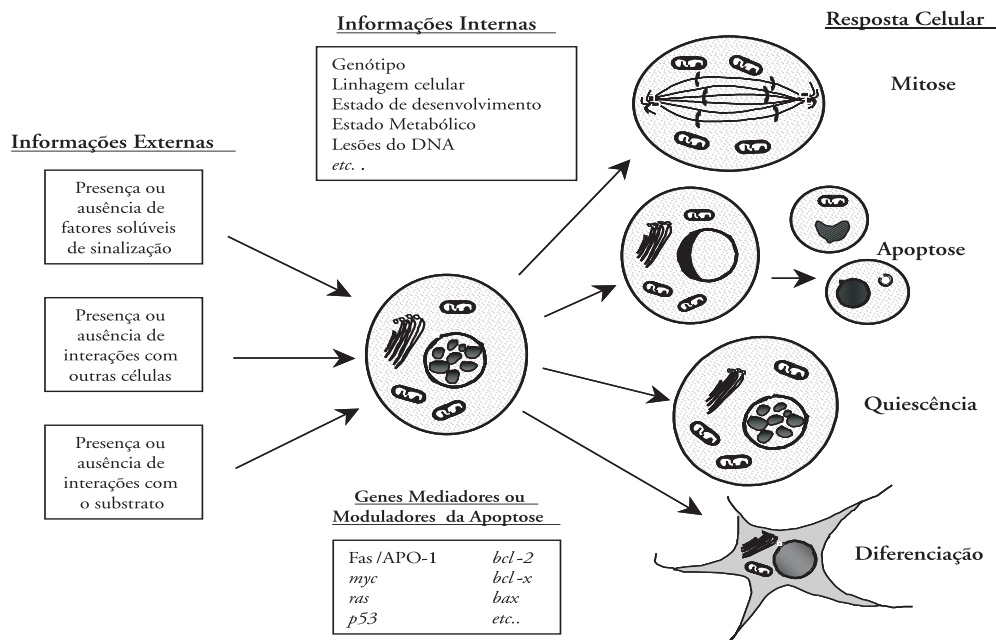


Figura 5 – Resposta celular a fatores externos e internos

Nota: As informações externas, sejam elas a presença ou a ausência de fatores solúveis de sinalização, de interações com outras células e (ou) com o substrato, podem ser traduzidas em uma resposta, seja ela proliferação (mitose), apoptose, quiescência ou diferenciação. A resposta celular vai variar em função do tipo celular, do estado metabólico e integridade do DNA, ou ainda em função da interferência de genes mediadores de ou modulares da resposta.

transativar os diferentes tipos de receptores RARs e (ou) RXRs, ou ainda que fossem seletivos para um dos isotipos desses receptores (α , β ou γ). Assim, novos retinóides, que apresentam afinidades precisas para certos receptores, foram sintetizados e caracterizados (LEHMANN et al., 1992; BOEHM et al., 1994; SHAO et al., 1995; CHARPENTIER et al., 1995) (FIGURA 6; FIGURA 7).

O uso de agonistas seletivos para o isotipo de receptor RAR α no tratamento de células

leucêmicas tem se revelado uma abordagem terapêutica interessante, pelo fato de os mecanismos patogênicos envolverem proteínas de fusão oncogênicas com o isotipo RAR α . Os agonistas de RAR α AM80, AM580 e BMS 194753 mostraram induzir diferenciação de células de leucemia promielocítica da linhagem HL-60 e NB4 (BENOIT et al., 1999). O retinóide AM80 induziu ainda, com sucesso, uma completa remissão em pacientes com leucemia promielocítica aguda, cuja terapia com o tAR foi falha

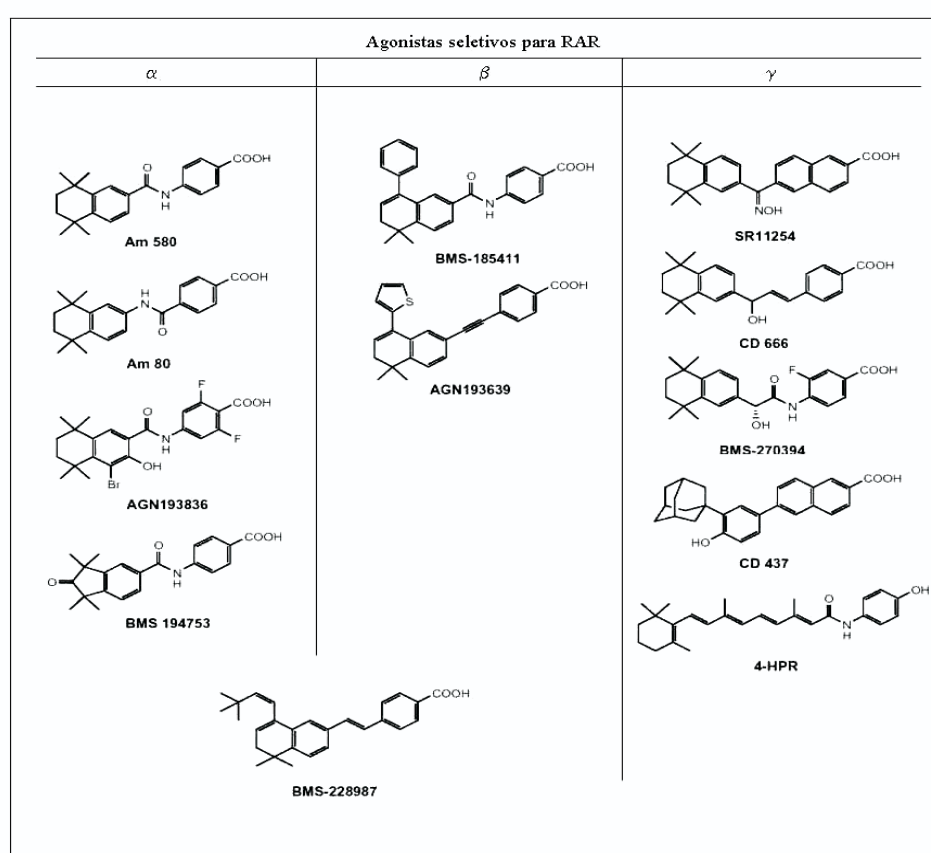


Figura 6 – Estrutura química de alguns retinóides sintéticos agonistas de receptores RAR.

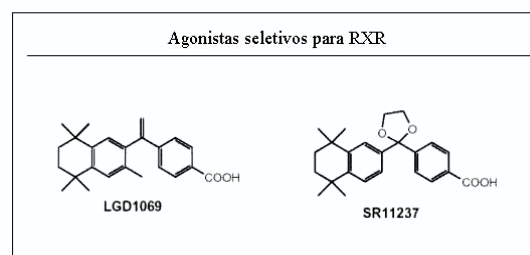


Figura 7-Estrutura química de alguns retinóides sintéticos agonistas de receptores RXR.

(TAKEUCHI et al., 1998). Além disso, com inibidores da HDAC, ligantes seletivos de RAR α puderam com sucesso estender suas aplicações terapêuticas para leucemias mielóides agudas, em que as células revelam uma resistência ao tAR dependente de HDAC. Em associação com o antiestrógeno 4-OH-tamoxifeno, agonistas de RAR α reprimiram, de forma sinérgica, o crescimento de células de carcinoma de seio. Juntos, esses estudos assinalam o potencial terapêutico de agonistas de RAR α na terapia de leucemias promielocítica e mielóide agudas e câncer de seio, e a atividade desses compostos poderia ser fortalecida em associação com outros agentes quimioterápicos.

Duplos agonistas, seletivos para os isotipos de RAR β e RAR (RAR α/β), também têm demonstrado potencial terapêutico. Um estudo de monitoramento da atividade supressora de tumor de dois agonistas RAR α/β BMS-228987 e BMS-276393, contra um painel de 18 linhagens de células tumorais de várias origens, revelou a ampla eficácia desses ligantes em inibir a proliferação das células tumorais, se comparada com aquela observada com o tAR ou panagonistas de RARs (VIVAT-HANNAH et al., 2001). De modo interessante, o agonista BMS-228987 também potencializou o efeito do taxol (paclitaxel) em vários tipos de células, tais como de câncer de ovário (linhagem OVCAR3) e de carcinoma de cabeça e pescoço SQCC-Y1). Os autores sugerem que a combinação dos efeitos observados pode ter resultado de atividades complementares dessas drogas ao nível do fator anti-apoptótico bcl-2 e da via de transdução de sinal JNK (*Jun N-terminal kinases*)-AP-1, resultando em uma indução sinérgica de citotoxicidade nas células tumorais.

Outra classe de retinóides seletivos que têm apresentado propriedades anticancerígenas é a dos chamados "retinóides atípicos". Dois compostos representativos dessa classe são a fenilretinamida (4HPR) e 6-[3-(1-adamantil)-4-hidroxifenil]-2-naftaleno (AHPN ou CD437). De fato, foi mostrado recentemente que CD437 inibiu o crescimento e a proliferação de algumas linhagens de células tumorais, como célu-

las de carcinoma de pulmão e do seio (SHAO et al., 1995), células de melanoma (SCHADENDORF et al., 1996), células de carcinoma de pulmão (SUN et al., 1997), células leucêmicas (HSU et al., 1997), células de carcinoma cervical (ORIDATE et al., 1998), o que também foi verificado por nós em células de glioblastoma (COSTA et al., 2001). Entre essas células tumorais, algumas demonstraram resistência ao tratamento com o ácido retinóico. Além disso, em um estudo pré-clínico com esse agente, observou-se que ele foi bem tolerado em doses que induziam uma atividade antitumoral (SCHADENDORF et al., 1996).

Embora os retinóides CD437 e 4-HPR possam se ligar seletivamente e ativar os receptores RAR γ (e fracamente RAR β) (BERNARD et al., 1992), vários achados sugerem que a forte atividade apoptótica dessas moléculas é independente de RAR e atua através de um mecanismo particular ainda em exploração. Estudos efetuados com células de carcinoma de seio e de pulmão mostram que esse retinóide pode induzir apoptose, independentemente das vias de ativação conhecidas, passando pelos receptores do tAR (SHAO et al., 1995; SUN et al., 1997). Com efeito, já foi demonstrado que o retinóide CD437 é capaz de induzir o fator de transcrição AP-1 em células de melanoma, o que se traduz pela indução de apoptose (SCHADENDORF et al., 1996). Por outro lado, já foi demonstrado que essa molécula é capaz de aumentar os níveis de expressão da proteína p53 (sabidamente envolvida no controle da proliferação celular e geralmente subexpressa em células tumorais), induzindo uma parada no crescimento na fase G1 do ciclo celular de diferentes tipos de células tumorais (SHAO et al., 1995; ADACHI et al., 1998; LI et al., 1998a). Ainda que existam argumentos sobre a capacidade do retinóide CD437 em induzir certos genes como p21^{WAF-1/CIP1} (SHAO et al., 1995) e Bcl-X_L (HSU et al., 1997) em células de carcinoma de seio e ativar p38 MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), os mecanismos implicados na indução de apoptose e de parada no crescimento celular são ainda muito pouco conhecidos.

Em nossa avaliação dos efeitos desse retinóide e outros retinóides sintéticos, obser-

vamos que CD437 possui um forte potencial em induzir inibição da proliferação celular e apoptose, e ainda diferenciação das células de glioblastoma multiforme humano das linhagens GL-15 e 8MG-BA ainda viáveis (COSTA et al., 2001), diferenciação também verificada na linhagem 42MG-BA (PERZELOVA et al., 1998) (FIGURA 8). Esses efeitos foram acompanhados de um aumento da expressão da proteína pró-apoptótica bcl-2, bem como da atividade da caspase-3, e ainda da indução dos isotipos RAR α e RAR β em ambas as linhagens celulares estudadas, o que comporta a hipótese da exigência de níveis elevados de isoformas específicas de RARs para estimular e orientar as células tumorais para uma via apoptótica ou para uma diferenciação.

Por força dessas atividades, os retinóides CD437 e 4-HRP têm demonstrado eficiência em inibir a progressão de tumores em vários modelos animais em estudos pré-clínicos, e têm sido adotados em triagens clínicas para testar suas atividades como quimioterápicos (SUN; LOTAN, 2002). Como exemplo, podemos citar a regressão substancial ou mesmo total de várias lesões pré malignas pelo retinóide 4-HPR, que incluem, por exemplo, queratoses cutâneas.

Com relação a retinóides agonistas dos isotipos RXR, um fato que devemos considerar é que esses receptores são capazes de formar

heterodímeros com um grande número de receptores nucleares. Assim, ligantes de RXRs (conhecidos como rexinóides) têm potencial para afetar várias vias de transdução de sinais. Um desses ligantes, o agonista de RXR LG1069 tem revelado a capacidade de prevenir a formação e a progressão de carcinomas mamários primários e secundários de rato, em um modelo de indução por N-nitrose-N-metiluréia (BISCHOFF et al., 1999; WU et al., 2002). Um efeito quimioterápico desse retinóide foi também observado em tumores de mama, e que foram associados com inibição da proliferação das células tumorais e indução de programa de diferenciação do tipo “adipogênese” (AGARWAL et al., 2000). Rexinóides mostraram ainda uma ação sinérgica com a via de sinalização da proteína cinase A (PKA), quando da indução de diferenciação terminal em células blásticas de leucemia promielocítica aguda, independentemente de seus graus de sensibilidade ao tAR (BENOIT et al., 1999). Os efeitos de retinóides sintéticos em células cancerígenas de diferentes origens estão descritos no quadro 3.

O conjunto desses achados sublinha a grande diversidade de efeitos reguladores de retinóides naturais e sintéticos e justifica a utilização de ligantes específicos como novos elementos terapêuticos para a terapia de cânceres.



Figura 8 – Indução de diferenciação de células gliomatosas da linhagem 8MG-BA pelo retinóide sintético CD437
Nota: As células em condições controle ou tratadas com 1 μ M de CD437 foram marcadas por imunocitoquímica com anticorpos específicos para a proteína do citoesqueleto vimentina (Vim) e revelados com fluoresceína. As células tratadas com CD437 foram também marcadas por imunocitoquímica com anticorpos específicos para a proteína do citoesqueleto de células gliais maduras GFAP (*glial fibrillary acidic protein*), o que indica uma diferenciação para um fenótipo do tipo astrocitário.

Tipo de Câncer	Linhagens	Retinóides	Agonista	Efeito
Carcinoma de ovário	CAOV-3	BMS-231974 BMS-228987	RAR α / β	Inibição da proliferação
Carcinoma de ovário	CAOV-3	CD437	RAR \bullet	apoptose
Carcinoma escamoso de cabeça e pescoço	SqCC-Y1	BMS-231974 BMS-228987	RAR α / β	Inibição da proliferação e diferenciação
Carcinoma escamoso de cabeça e pescoço	C33A	CD437	RAR γ	Inibição da proliferação e apoptose
Carcinoma de pulmão		CD437	RAR γ	Inibição da proliferação e apoptose
Carcinoma Cervical	C33 Hela HT3	4-HPR	RAR γ RAR β	Inibição da proliferação
Leucemia promielocítica	HL-60; NB4	AM80 AM580 BMS194753	RAR α	Inibição da proliferação e diferenciação
Leucemia promielocítica	NB4	LG1069	RXR	Inibição da proliferação e diferenciação
Glioblastoma	GL-15 8MG-BA 8MG-MA	CD437 CD2325	RAR γ	Inibição da proliferação, apoptose e diferenciação
Melanoma	S91	CD437	RAR γ	Inibição da proliferação e apoptose
Mieloma	MCF-7	CD437	RAR γ	apoptose

Quadro 3 – Efeitos de retinóides sintéticos em células cancerígenas de diferentes origens.

The molecular basis and retinoids effects on tumor cells

Abstract

The retinoids are a group of substances that regulates cellular growth and differentiation, which includes the trans-retinoic acid (ATRA), the 9-cis-retinoic acid (cRA), and natural or synthetic derivatives. They act via binding and activation of specific nuclear receptors (RAR α , β , γ and RXR α , β , γ). These receptors belong to the nuclear steroid hormone receptor superfamily and act as ligand-dependent transcriptional regulators. Many studies have been revealed that retinoids are effective inhibitors of tumor cell growth in vitro and in vivo, and its tumor-suppressive activity has been established preclinically, and constitutes an alternative in potential for the treatment of many forms of cancer. Recent advances in understanding RARs and RXRs activation has led to a new generation of synthetic retinoids. These agents have been also found to be effective in suppressing growth and inducing apoptosis or differentiation in tumor cells.

Keywords: Retinoids. Cancer. Apoptosis. Cell differentiation. Chemotherapy.

REFERÊNCIAS

ADACHI, H. et al. Inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis by the retinoid AHPN in human lung carcinoma cells. *Am J. Respir. Cell Mol.Biol.*, New York, v.18, p.323-333, 1998.

AGARWAL, V.R. et al. Induction of adipocyte-specific gene expression is correlated with mammary tumor regression by the retinoid X receptor-ligand LGD1069 (Targretin). *Cancer Res.*, Baltimore, v.60, p.6033-6038, 2000.

- ALNEMRI, E.S. et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, Cambridge, UK, v.87, p.171, 1996.
- ALTUCCI, L.; GRONEMEYER, H. The promise of retinoids to fight against cancer. *Nat. Rev. Cancer*, London, v.1, n.3, p.181-193, 2001.
- ATENCIA, R. et al. Apoptosis during retinoic acid-induced differentiation of embryonal carcinoma cells. *Exp. Cell Res.*, Orlando, v.214, p.663-667, 1994.
- BASTIEN, J.; ROCHETTE-EGLY, C. Nuclear retinoid receptors and the transcription of target genes. *Gene*, Amsterdam, v.328, p.1-16, 2004.
- BENOIT, G. et al. RAR-independent RXR signaling induces t (15;17) leukemia cell maturation. *EMBO J.*, Oxford, v.18, p.7011-7018, 1999.
- BERNARD, B.A. et al. Identification of synthetic retinoids with selectivity for human nuclear retinoic acid receptor γ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, San Diego, v.186, p.977-983, 1992.
- BISCHOFF, E.D. et al. Effect of the retinoid X receptor-selective ligand LGD1069 on mammary carcinoma after tamoxifen failure. *J. Natl. Cancer Inst.*, Cary, v.91, p.2118-2123, 1999.
- BLANER, W.S.; OLSON, J.A. Retinol and retinoic acid metabolism. In: SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B.; GOODMAN, D.S. (Ed.). *The retinoids: biology, chemistry and medicine*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994. p.399-404.
- BLOMHOFF, R. (Ed.). *Vitamin A in health and disease*. New York: Marcel Dekker, 1994.
- BOEHM, M.F. et al. Synthesis of high specific activity [³H]-9-cis-retinoic acid and its application for identifying retinoids with unusual binding properties. *J. Med. Chem.*, Washington, DC, v.37, p.408-414, 1994.
- BOYLAN, J.F.; GUDAS, L.J. Overexpression of the cellular retinoic acid binding protein-1 (CRABP-I) results in reduction in differentiation-specific gene expression in F9 teratocarcinoma cells. *J. Cell Biol.*, New York, v.112, p.965-979, 1991.
- BURGER, P.C.; SCHEITHAUER, B.W. *Tumors of the central nervous system*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1994.
- CARPENTIER, Y. et al. Cofactors in vitro induction of apoptosis in HL-60 cells by all-trans retinoic acid (ATRA). *Biochem. Pharmacol.*, Oxford, v.55, p.177-184, 1998.
- CHAMBAUT-GUÉRIN, A. et al. Effects of retinoic acid and tumor necrosis factor alpha on GL-15 glioblastoma cells. *Neuroreport*, London, v.11, n.2, p.389-393, 2000.
- CHAMBON, P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J.*, Bethesda, v.10, p.940-954, 1996.
- CHARPENTIER, B. et al. Synthesis, structure-affinity relationships, and biological activities of ligands binding to retinoic acid receptor subtypes. *J. Med. Chem.*, Washington, DC, v.38, n.26, p.4993-5006, 1995.
- CHEN, Z.X. et al. A clinical and experimental study of all-trans retinoic acid-treated acute promyelocytic leukemia patients. *Blood*, Washington, DC, v.78, p.1413-1419, 1991.
- CLIFFORD, J. et al. RXRa-null F9 embryonal carcinoma cells are resistant to the differentiation, anti-proliferative and apoptotic effects of retinoids. *EMBO J.*, Oxford, v.15, p.4142-4155, 1996.
- COSTA, S.L. et al. Efeitos in vitro do ácido retinóico em células de glioblastoma. *R. Ci. Méd. Biol.*, Salvador, v.1, n.1, p.49-60, 2002.
- COSTA, S.L. et al. Effects of a novel synthetic retinoid on malignant glioma in vitro: inhibition of cell proliferation, induction of apoptosis and differentiation. *Eur. J. Cancer*, Oxford, v.37, p.520-530, 2001.
- DE LUCA, L.M. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis, and neoplasia. *FASEB J.*, Bethesda, v.5, p.2924-2933, 1991.

- DE MURCIA, G.; MÉNISSIER DE MURCIA, J. Poly (ADP-ribose) polymerase: a molecular nick-sensor. *Trends Biochem. Sci.*, Cambridge, UK, v.19, p.172-176, 1994.
- DEFER, G.L. et al. All-trans retinoic acid in relapsing malignant gliomas: clinical and radiological stabilization associated with the appearance of intratumoral calcifications. *J. Neurooncol.*, Dordrecht, v.34, p.169-177, 1997.
- FIORELLA, P.D.; NAPOLI, J.L. Expression of cellular retinoic acid binding protein (CRABP) in *Escherichia*: characterization and evidence that holo-CRABP is substrate in retinoic acid metabolism. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.266, p.16572-16579, 1991.
- FISHER, D.E. Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold. *Cell*, Cambridge, UK, v.78, p.539-542, 1994.
- FRANKEL, S.R. et al. The retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia. *Ann.Intern. Med.*, Philadelphia, v.117, p.292-296, 1992.
- GAGLIARDINI, V. et al. Prevention of vertebrate neuronal death by *crmA* gene. *Science*, Washington, DC, p.263, p.826-828, 1994.
- GIANNINI, G. et al. Activation of three distinct RXR/RAR heterodimers induces growth arrest and differentiation of neuroblastoma cells. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.272, n.42, p.2693-2701, 1997.
- GIGUÈRE, V. Retinoic acid receptors and cellular retinoid binding proteins: complex interplay in retinoid signalling. *Endocr. Rev.*, Baltimore, v.15, p.61-79, 1994.
- GUDAS, L.J.; SPORN, M.B., ROBERTS, A.B. Cellular biology and biochemistry of retinoids. In: SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B.; GOODMAN, D.S. (Ed.). *The retinoids: biology, chemistry and medicine*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994. p.443-520.
- HENGARTNER, M.O.; HORVITZ, H.R. Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Opin. Genet.Dev.*, London, v.4, p.581-586, 1994.
- HERGET, T. et al. Retinoic acid induces apoptosis-associated neural differentiation of a murine teratocarcinoma cell line. *J. Neurochem.*, New York, v.70, p.47-58, 1998.
- HEYMAN, R.A. et al. 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell*, Cambridge, UK, v.68, p.397-406, 1992.
- HOCKENBERY, D. et al. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*, London, v.348, p.334-336, 1990.
- HOOPEES, C.W. et al. Mapping of the mouse *Rxr* loci encoding nuclear retinoid X receptor RXR alpha, RXR beta, and RXR gamma. *Genomics*, San Diego, v.14, p.611-617, 1992.
- HSU, C.A. et al. Retinoid induced apoptosis in leukemia cells through a retinoic acid nuclear receptor-independent pathway. *Blood*, Washington, DC, v.89, p.4470-4479, 1997.
- HUA, C. et al. Mechanism of Bcl-2 activation in human follicular lymphoma. *Oncogene*, Basingstoke, v.5, n.2, p.233-235, 1990.
- ISHIKAWA, T. et al. A functional retinoic acid receptor encoded by gene on human chromosome 12. *Mol. Endocrinol.*, Baltimore, v.4, p.837-844, 1990.
- KASTNER, P.; MARK, M.; CHAMBON, P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? *Cell*, Cambridge, UK, v.83, p.859-869, 1995.
- KAUFMANN, S.H. et al. Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: an early marker of chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res.*, Baltimore, v.53, p.3976-3985, 1993.
- KHURI, F.R.; CHO, Y.; TALMAGE, D.A. Retinoic acid-induced transition from protein kinase C beta to protein kinase C alpha in differentiated F9 cells: correlation with altered regulation of proto-oncogene expression by phorbol esters. *Cell Growth Differ.*, Philadelphia, v.7, p.595-602, 1996.
- KORSMEYER, S.J. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death.

- Blood**, Washington, DC, v.80, p.879-886, 1992.
- KORSMEYER, S.J. Regulators of cell death. **Trends Genet.**, Cambridge, UK, v.11, p.101-105, 1995.
- LAZEBNIK, Y.A. et al. Studies of the lamin proteinase reveal multiple parallel biochemical pathway during apoptotic execution. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, DC, v.92, p.9042-9046, 1995.
- LEHMANN, J.M. et al. Retinoids selective for retinoid X receptors response pathways. **Science**, Washington, DC, v.258, p.1944-1946, 1992.
- LEID, M.; KASTNER, P.; CHAMBON, P. Multiplicity generates diversity in retinoic acid signalling pathways. **Trends Biochem. Sci.**, Cambridge, UK, v.17, p.427-433, 1995.
- LEVI, D.E. The house that jak/Stat built. **Cyt. Growth Fact. Rev.**, Oxford, v.8, p.81-90, 1997.
- LI, Y. et al. Molecular determinants of AHPN (CD437)-induced growth arrest and apoptosis in human lung cancer cell lines. **Mol. Cell Biol.**, Washington, DC, v.18, p.4719-4731, 1998a.
- LI, Y. et al. Regulation of RAR beta expression by RAR- and RXR-selective retinoids in human lung cancer cell lines: effect on growth inhibition and apoptosis induction. **Int. J. Cancer**, New York, v.75, p.88-95, 1998b.
- LIPPMAN, S.M.; BENNER, S.E.; HONG, W.K. Cancer chemoprevention. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria, v.12, p.851-873, 1994.
- LOTAN, R. Retinoids in cancer chemoprevention. **FASEB J.**, Bethesda, v.10, p.1031-1039, 1996.
- MANGELSDORF, D.J.; UMESONO, K.; EVANS, R.M. The retinoid receptors. In: SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B.; GOODMAN, D.S. (Ed.) **The retinoids: biology, chemistry and medicine**. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994. p.319-349.
- MANGIAROTTI, R. et al. All-trans retinoic acid (ATRA)-induced apoptosis is preceded by G1 arrest in human MCF-7 breast cancer cells. **Br. J. Cancer**, London, v.77, n.2, p.186-191, 1998.
- MATTEI, M.G. et al. Assignment of human hap retinoic acid receptor RAR beta gene to the p2 band of chromosome 3. **Hum. Genet.**, Berlin, v.80, p.189-190, 1988a.
- MATTEI, M.G. et al. Chromosomal assignment of retinoic acid receptor (RAR) genes in human, mouse, and rat genomes. **Genomics**, San Diego, v.10, p.1061-1069, 1991.
- MATTEI, M.G. et al. Mapping of the human retinoic acid receptor to the q21 band of chromosome 17. **Hum. Genet.**, Berlin, v.80, p.186-188, 1988b.
- MEHTA, K. et al. Activation of retinoid receptors RAR and RXRa induces differentiation and apoptosis, respectively, in HL-60 cells. **Cell Growth Differ.**, Philadelphia, v.7, p.179-186, 1996.
- MIYASHITA, T.; REED, J.C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. **Cell**, Cambridge, UK, v.80, p.293-299, 1995.
- MOLOGNI, L. et al. The novel synthetic retinoid 6-[3-(1-adamantyl)-4-hydroxyphenyl]-2-naphthalene carboxylic acid (CD437) causes apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells through rapid activation of caspases. **Blood**, Washington, DC, v.93, p.1045-1061, 1999.
- MOON, R.C.; MEHTA, R.G.; RAO, K.V.N. Retinoids and cancer in experimental animals. In: SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B.; GOODMAN, D.S. (Ed.) **The retinoids: biology, chemistry and medicine**. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994. p.573-595.
- MORRIS-KAY, G.M.; SOKOLOVA, N. Embryonic development and pattern formation. **FASEB J.**, Bethesda, v.10, p.961-968, 1996.
- NAGY, L. et al. Activation of retinoid X receptors induces apoptosis in HL-60 cell lines.

- Mol. Cell. Biol.*, Washington, DC, v.15, p.3540-3551, 1995.
- NAPOLI, J.L. Regulation of the biosynthesis and catabolism of retinoids. *FASEB J.*, Bethesda, v.10, p.993-1001, 1996.
- NG, K.W. et al. Regulation and regulatory role of the retinoids. *Crit. Rev. Eukariot. Gene Expr.*, New York, v.5, p.219-253, 1995.
- ORIDATE, N. et al. Implications of retinoic acid receptor γ in squamous differentiation and response to retinoic acid head end neck SqCC/Y1 squamous carcinoma cells. *Oncogene*, Basingstoke, v.12, p.2019-2028, 1996.
- ORIDATE, N. et al. Rapid induction of apoptosis in human C33A cervical carcinoma cells by synthetic retinoid 6-[3-(1-adamantyl)-4-hydroxyphenyl]-2-naphthalene carboxylic acid (CD437). *Int. J. Cancer*, New York, v.70, p.484-487, 1998.
- PAILLAUD, E. et al. Retinoic acid increases proliferation rate of GL-15 glioma cells, involving activation of STAT-3 transcription factor. *J. Neurosci. Res.*, New York, v.67, n.5, p.670-679, 2002.
- PEPPER, C.; BENTLEY, P.; HOY, T. Regulation of clinical chemoresistance by bcl-2 and bax oncoproteins in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.*, Oxford, v.95, p.609-619, 1996.
- PERZELOVA, A. et al. Characterization of two permanent glioma cell lines 8MG-BA and 42-MG-BA. *Neoplasma*, Bratislava, v.45, p.25-29, 1998.
- PIEDRAFITA, F.J.; PFHAL, M. Retinoid-induced apoptosis and Sp1 cleavage occur independently of transcription and require caspase activation. *Mol. Cell. Biol.*, Washington, DC, v.17, p.6348-6358, 1997.
- REED, J.C. et al. Bcl-2 family proteins: regulators of chemoresistance in cancer. *Toxicol. Lett.*, Amsterdam, v.82/83, p.155-158, 1995.
- REED, J.C. et al. Regulation of bcl-2 proto-oncogene expression during normal human lymphocyte proliferation. *Science*, Washington, DC, v.236, p.1295-1299, 1987.
- SCHADENDORF, D. et al. Treatment of melanoma cells with the synthetic retinoid AHPN/CD437 induces apoptosis via activation of AP-1 in vitro, and causes growth inhibition in xenografts in vivo. *J. Cell Biol.*, New York, v.135, p.1889-1898, 1996.
- SCHEIBE, R.J.; GINTY, D.D.; WAGNER, J.A. Retinoic acid stimulates the differentiation of PC12 cells that are deficient in AMPc-dependent protein kinase. *J. Cell Biol.*, New York, v.113, p.1173-1182, 1991.
- SCHLEGEL, J. et al. CPP32/apopain is a key interleukin 1 beta converting enzyme-like protease involved in Fas-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.271, p.1841-1844, 1996.
- SHAO, Z-M. et al. P53 independent G0/G1 arrest and apoptosis induced by a novel retinoid in human breast cancer cells. *Oncogene*, Basingstoke, v.11, p.493-504, 1995.
- SPORN, M.B. et al. Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Fed. Proc.*, Bethesda, v.35, p.1332-1338, 1976.
- SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B. Interactions of retinoids and transforming growth factor- β in regulation of cell differentiation and proliferation. *Mol. Endocrinol.*, Baltimore, v.5, p.3-7, 1991.
- SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B.; DEWITT, S.G. *The retinoids: biology, chemistry and medicine*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.
- SUN, S.Y. et al. Differential effects of synthetic nuclear retinoid receptor-selective retinoids on the growth of human non-small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res.*, Baltimore, v.57, p.4931-4939, 1997.
- SUN, S.Y.; LOTAN, R. Retinoids and their receptors in cancer development and chemoprevention. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, Limerick, v.41, p.41-55, 2002.

- TAKEUCHI, M. et al. Relapsed acute promyelocytic leukemia previously treated with all-trans retinoic acid: clinical experience with a new synthetic retinoid, Am-80. **Leuk. Lymphoma**, London, v.31, n.5/6, p.441-451, 1998.
- TERUI, Y. et al. Apoptosis during HL60 cell differentiation is closely related to a G0/G1 cell cycle arrest. **J. Cell. Physiol.**, New York, v.164, p.74-84, 1995.
- THALLER, C.; EICHELE G. Identification and spatial distribution of retinoids in the developing chick limb bud. **Nature**, London, v.327, p.625-628, 1987.
- THOMAS, A. et al. Drug-induced apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia: relationship between p53 gene mutation and bcl-2/bax proteins in drug resistance. **Oncogene**, Basingstoke, v.12, p.1055-1062, 1996.
- VASIOS, G. et al. The late retinoic acid induction of laminine B1 gene transcription involves RAR binding to the responsive element. **EMBO J.**, Oxford, v.10, p.1149-1158, 1991.
- VIVAT-HANNAH, V. et al. Synergistic cytotoxicity exhibited by combination treatment of selective retinoid ligands with taxol (paclitaxel). **Cancer Res.**, Baltimore, v.61, p.8703-8711, 2001.
- WALKER, P.R. et al. Relationship between apoptosis and the cell cycle in lymphocytes: roles of protein kinase C, tyrosine phosphorylation and AP-1. **Exp. Cell Res.**, Orlando, v.207, p.142-151, 1993.
- WARRELL JR, R.P. Differentiating agents. In: DEVITA JR, V.T.; HELLMANN, S.; ROSENBERG, S.A. (Ed.). **Cancer: principles and practice of oncology**. 5th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1997. v.1, p.483-490.
- WARRELL JR, R.P. et al. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia patients with tretinoin (all-trans-retinoic acid). **N.Engl. J. Med.**, Boston, v.324, p.1385-1393, 1991.
- WATSON, R.W. et al. Granulocytic differentiation of HL-60 cells results in spontaneous apoptosis mediated by increased caspase expression. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v.412, p.603-609, 1997.
- WHITE, E. et al. Life, death, and the pursuit of apoptosis. **Genes Dev.**, Cold Spring Harbor, v.10, p.1-15, 1996.
- WU, K. et al. Suppression of mammary tumorigenesis in transgenic mice by the RXR-selective retinoid LGD1069. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, Philadelphia, v.11, p.467-474, 2002.
- YUAN, J. et al. The C. elegans cell death gene ced-3 encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. **Cell**, Cambridge, UK, v.75, p.641-652, 1993.
- ZHENG, A. et al. All-trans-retinoic acid induces apoptosis in acute myeloblastic leukemia cells. **Apoptosis**, Boston, v.2, p.319-329, 1997.
- ZUSI, F.C.; LORENZI, M.V.; VIVAT-HANNAH, V. Selective retinoids and rexinoids in cancer therapy and chemoprevention. **Drug Discov. Today**, Kidlington, v.7, n.23, p.1165-1174, 2002.

Recebido em / Received: 13/19/2004
Aceito em / Accepted: 19/11/2004

Agradecimentos:

Ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia e à Unité INSERM-421, que permitiram o desenvolvimento deste trabalho, o qual dedico a Dra. Marcienne Tardy.