

# Radioterapia de Glioblastoma: Reorganização das Vias de Manutenção do Genoma

J. K. Ludwig<sup>1</sup>; C. L. dos Santos<sup>1</sup>; E. M. Simão<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Física Médica, Centro Universitário Franciscano, CEP 97010-032, Santa Maria – RS, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Nanociências, Centro Universitário Franciscano, CEP 97010-032, Santa Maria – RS, Brasil

edersimão@gmail.com

(Recebido em 22 de maio de 2014; aceito em 30 de julho de 2014)

Glioblastoma é um tumor cerebral muito agressivo que ocorre nas células da Glia. O tratamento consiste em quimioterapia, cirurgia e radioterapia. A radioterapia é um método de tratamento que utiliza radiações ionizantes para destruir as células cancerígenas. As células possuem mecanismos de manutenção do genoma distribuídos em vias de apoptose, resposta aos danos do *DNA* (DDR) e ciclo celular. Essas vias são formadas por conjuntos de proteínas e desempenham funções específicas dentro do organismo (ex. promover a morte celular). A mutação dessas proteínas associada à falha desses mecanismos de manutenção do genoma (MMG) podem provocar a ativação de mutações e consequentemente levar ao desenvolvimento do câncer. O objetivo deste trabalho é identificar as vias e proteínas expressas no tratamento do câncer utilizando softwares livres de análise estatística desenvolvidos em plataforma Fortran e mostrar os efeitos ocasionados pela radiação das vias MMG em tecidos cancerosos. Nos resultados, foram encontradas nas vias MMG no glioblastoma tratado com radioterapia, ativação das vias de apoptose e resposta aos danos do *DNA*, indicando que há morte dos tecidos carcinogênicos provocados pela radiação e que algumas células estão desencadeando um processo de reparação e morte do *DNA*.

Palavras-chave: radioterapia, mecanismos de manutenção do genoma, câncer.

## Radiotherapy for Glioblastoma: Reorganization of Genome Maintenance Mechanisms Involved in the Process of Inhibiting Cancer

Glioblastoma is a very aggressive brain tumor, which occurs in Glial cells. The treatment consists in chemotherapy, surgery and radiotherapy. The radiotherapy is a treatment method that uses ionizing radiation to kill cancer cells. The cells have genome maintenance mechanisms (MMG) distributed in apoptosis, *DNA* damage response, and cell cycle pathways. These pathways are formed by sets of proteins and perform specific functions within the cell (example: induce cell death). The mutation of these proteins associated with the failure of the MMG can cause the activation of mutations and consequently induce the development of cancer. This work, objective has to identify pathways and proteins expressed in cancer treatment using free softwares of the statistical analysis, developed in Fortran and R platforms to show the effects caused by radiation in the proteins of cancerous tissues. The results, were found to pathways of glioblastoma treated with radiotherapy, activation of apoptosis and response to *DNA* damage pathways, indicating that there is death of carcinogenic tissue caused by radiation and that some cells are triggering a process of *DNA* repair.

Keywords: radiotherapy, genome mechanisms maintenance, cancer.

## 1. INTRODUÇÃO

Células da glia ou neuroglia são células que dão suporte e proteção para o sistema nervoso central, essas células também são responsáveis pela nutrição e oxigênio cerebral. Elas podem sofrer alterações provocadas pelos efeitos da exposição a produtos químicos que podem provocar instabilidade genômica e conduzir ao desenvolvimento do câncer. Desta forma o glioblastoma (GBM) é um tumor maligno, que pode se espalhar por partes saudáveis do cérebro, causando inchaço e perda das atividades cognitivas [1].

Os tumores são células que perderam a capacidade de reprodução, montar e criar tecidos com formas e funções normais. O câncer é visto como uma doença da má formação celular. Existem vários tipos de câncer emergentes de várias maneiras que evoluem de acordo com os fatores ambientais e genéticos. Cerca de 1% do genoma humano apresenta implicações

na tumorigênese e no desenvolvimento tumoral. A displasia é caracterizada como uma lesão celular reversível e pelo crescimento anormal de células que poderão evoluir ao câncer passando por três estágios pré-cancerosos, que são definidos como: adenoma primário, intermediário e tardio [2]. Uma célula perde a capacidade de regular seu crescimento através de uma série de mutações aleatórias. Com um desenvolvimento desordenado, acelerado e com rompimento de barreiras que impedem a progressão do câncer, as células continuam a se dividir acumulando mais alterações e contornando proteções que impedem a evolução de danos [3], como por exemplo, resposta aos danos em quebras duplas do *DNA*. O acúmulo dessas mutações resultará em um tumor formado exclusivamente por uma massa de células malignas.

Com o propósito de analisar as alterações em tecidos geneticamente alterados os pesquisadores avaliam a perda de expressão dos mecanismos de manutenção do genoma (MMG) [4,5,6]. Um estudo sobre o desenvolvimento do câncer foi publicado por Simão e colaboradores [7]. Segundo o modelo, há evidências de que tecidos pré-cancerosos apresentam diminuição da expressão em alguns mecanismos de manutenção do genoma (MMG), relacionados ao índice de proliferação celular, seguidas por um aumento da atividade das vias de reparação ao dano do *DNA* (RDD), morte celular programada e necrose. Com o aumento das atividades das vias de apoptose e reparo do *DNA*, é formada uma barreira contra a progressão do câncer. Uma vez rompida a barreira, há o acúmulo de mutações em células geneticamente alteradas que irão favorecer o desenvolvimento do câncer [7].

Segundo Simão e colaboradores essas três vias de manutenção do genoma que (ciclo celular, reparação do *DNA* e apoptose) desempenham funções específicas. Durante a reprodução celular ocorre a ativação das vias do ciclo celular. Essas vias desencadeiam um processo conhecido como pontos de verificação do ciclo celular. Durante a proliferação elas fazem a verificação dos danos causados ao *DNA*. Uma vez verificado à presença de danos e o grau de alteração destes, são ativadas vias responsáveis pela correção ou eliminação dos danos, chamadas vias de resposta aos danos do *DNA*. Caso ocorram alterações em fitas simples ou em algumas sequências de fitas duplas de *DNA*, são ativadas dois tipos de vias de reparação: a primeira delas envolve, por exemplo, o reparo por excisão de bases, que inclui a inserção de bases nitrogenadas em locais onde ocorreu a deleção de parte do *DNA*. Em danos provocados em fitas duplas, o reparo das duplas quebras do *DNA*, é responsável pela inserção de outros fragmentos de nucleotídeos ou até mesmo busca por recombinação homologa através da inclusão de partes semelhantes do *DNA* alterado por mutação. Se ocorrer um dano não reparável pelas vias de resposta aos danos do *DNA* à célula como último recurso ativa a via de morte celular programada (apoptose). Essa via tem a capacidade de desencadear uma cascata de eventos que culminará na morte da célula. Na presença de danos a célula sofre alterações morfológicas incluindo a retração da célula, perda da aderência com células vizinhas, fragmentação e formação de corpos apoptóticos [7]. Essa via, além de desempenhar um papel nos pontos de controle está associada a inúmeras doenças, como o câncer. Dentre a ativação deste recurso de morte programada há também a ativação dos fatores de necrose tumoral (*TNF*) e do fator nuclear kappa B (*NFKB*). Na presença da apoptose há liberação de material celular (corpos apoptóticos) que irá provocar uma resposta inflamatória e imunológica dos tecidos adjacentes ao tumor. Durante essa resposta ocorre a ativação das vias envolvidas na necrose tumoral (*TNF*), que degradam esses corpos apoptóticos por fagocitose. Além deste processo ocorre também uma resposta imunológica que é ativada pelos fatores nucleares (*NFKB*). Esses fatores estão envolvidos na resposta celular a estímulos, como na presença dos radicais livres liberados pela interação da radiação com o meio biológico [4].

Para evitar a formação das massas neoplásicas existem, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), basicamente três tipos de tratamento do câncer: quimioterapia, cirurgia e radioterapia [8]. A quimioterapia é caracterizada pela utilização de fármacos que destroem as células caracterizadas por uma alta taxa de proliferação. Hoje em dia esses fármacos são carregados diretamente aos tumores e causam poucos danos a outros tecidos, como por exemplo, o tecido cutâneo. Quando entram em contato com as células tumorais os fármacos nanoencapsulados são ativados, por calor (termossensíveis) evitando assim a destruição de outras células sadias [9]. O segundo tipo de tratamento é a cirurgia, que envolve a remoção total ou parcial do câncer, dependendo do tipo e localização tumoral. A radioterapia é um método capaz

de destruir células cancerígenas através de radiações ionizantes. Uma dose pré-calculada é aplicada no volume tumoral de forma fracionada, evitando ao máximo atingir tecidos saudáveis na vizinhança [10].

Em GBM são aplicadas doses de radiação que variam entre 20 e 40 Gy, divididos em 12 frações [10]. Essa dose é suficiente para permitir que o tumor regreda e que os tecidos saudáveis ocupem o espaço deste tumor maligno, que será eliminado por um processo chamado de necrose tumoral [11].

A regressão tumoral ocorre essencialmente por dois fatores biológicos bem conhecidos: O primeiro engloba a morte das células irradiadas e o segundo pela parada da proliferação celular. Durante a interação ocorre uma catástrofe mitótica que desencadeará uma série de eventos biológicos, tendo como principal característica a morte por apoptose, necrose ou autofagia. Ainda, durante essa interação ocorrerá o bloqueio da proliferação celular que será ativado essencialmente por 2 proteínas: Em *G1* para *S* pela proteína *p21* e em *G2* para *M* pela proteína *p53* [12]. Durante a evolução do câncer Simão e colaboradores analisaram através da atividade e diversidade relativa a ativação destas duas vias de apoptose e ciclo celular em tecidos de adenoma e câncer. Contudo, o modelo proposto não descreve a evolução do quadro a partir do tratamento radioterápico propondo assim a realização de uma nova abordagem que descreva um modelo mais completo sobre todo o desenvolvimento e tratamento do câncer a partir dos resultados obtidos por Kondo em 2013 [12].

O objetivo deste trabalho é quantificar as alterações nas vias MMG e verificar a expressão de proteínas envolvidas, não somente na transição de tecidos pré-cancerosos para o câncer, mas também verificar através de uma abordagem quantitativa as alterações em vias responsáveis pelas alterações em grupos funcionais envolvidos no tratamento do câncer por radioterapia de alta energia no tratamento do câncer cerebral (glioblastoma - GBM).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para desenvolver o diagrama que mostrará as alterações nas doenças, será utilizada a análise estatística da atividade relativa e diversidade relativa de vias em amostras de microarranjos de GBM e GBM tratados com radioterapia de alta energia, fabricados pela *Affymetrix* [13] e disponíveis no banco de dados *Gene Expression Omnibus (GEO)* [14,15]:

1. Série *GSE7696* do *GEO* [16]: 19 GBMs de pacientes tratados com radioterapia e 4 amostras de tecido cerebral normal. Os microarranjos foram obtidos a partir de pacientes adultos com idades que variam entre 40 e 70 anos. Também foram extraídas somente amostras de pacientes tratados com radioterapia (*GBM, radiotherapy*) e pacientes normais (*non-tumoral*) [16].
2. Série *GSE35493* do *GEO* [17]: 13 amostras de GBMs (não tratados) e 9 amostras de tecido cerebral normal. Essas amostras foram utilizadas para validar os novos resultados obtidos neste trabalho com o trabalho publicado em 2012 por Simão e colaboradores [7]. Foram utilizadas amostras de crianças com glioblastomas e tecidos normais de partes do cérebro, tais como occipital, cerebelo, frontal, temporal e parietal [17].

No material suplementar são apresentadas as amostras e os valores médios e desvio padrão para cada um dos genes estudados.

As vias e subvias com funções mais específicas entre reparo, apoptose e ciclo celular, serão selecionadas de acordo com a sua importância na execução da manutenção do genoma em resposta a evolução das modificações encontradas em tecidos relacionados a progressão e a aniquilação tumoral. As vias MMG foram extraídas de Simão e colaboradores [7].

Para analisar a expressão das vias em tecidos cancerosos Castro e colaboradores (2007) introduziram o método de análise de expressão de vias e subvias [5].

Um primeiro método analítico envolve a atividade relativa, que é um método de análise estatística usada para calcular a expressão de uma determinada via  $\alpha$  com um número de genes  $M_\alpha$ , deve-se somar a expressão dos genes em dois grupos de vias: o primeiro grupo representa as amostras de tecidos alterados ou experimentais  $N_\alpha^e$  e o segundo grupo é composto pelas amostras de tecidos normais ou controle  $N_\alpha^c$ . Então, a atividade relativa  $n_\alpha$  da via  $\alpha$  será dada por:

$$n_{\alpha} = \frac{N_{\alpha}^e}{N_{\alpha}^e + N_{\alpha}^y} \quad (1)$$

O valor de  $n_{\alpha}$  varia entre  $0 \leq n_{\alpha} \leq 1$  se  $n_{\alpha} < 0,5$  implica que  $N_{\alpha}^e < N_{\alpha}^y$ , isto é, a atividade da via com amostra alterada é menor que a atividade do controle, enquanto que  $n_{\alpha} > 0,5$  representa o caso inverso [5,7].

Assim como a atividade relativa a diversidade relativa mostra o grau de alteração entre os genes na via. Para caracterizar de forma quantitativa a diversidade para uma via  $\alpha$  é utilizada a entropia de Shannon [18], que mostra o grau de alteração entre os genes. Esta entropia é descrita como:

$$H_{\alpha} = -\frac{1}{\ln(M_{\alpha})} \sum_i^{M_{\alpha}} p(i, \alpha) \ln p(i, \alpha) \quad (2)$$

onde  $M_{\alpha}$  é o número de genes na via e  $p(i, \alpha)$  é a frequência da diversidade do gene  $i$ , dada por:

$$p(i, \alpha) = \frac{s(i, \alpha)}{N_{\alpha}} \quad (3)$$

com  $s(i, \alpha)$  sendo a atividade do gene ( $i$ ) e  $N_{\alpha}$  a soma da expressão dos genes na via ( $\alpha$ ). O termo  $\ln(M_{\alpha})$  é um fator de normalização que garante  $0 \leq H_{\alpha} \leq 1$ , desta forma, pode-se comparar as vias com diferentes quantidades de genes. Tendo como referência o sinal controle da amostra, pode-se definir a diversidade relativa ( $h_{\alpha}$ ) como:

$$h_{\alpha} = \frac{H_{\alpha}^e}{H_{\alpha}^e + H_{\alpha}^y} \quad (4)$$

onde  $H_{\alpha}^e$  e  $H_{\alpha}^y$  são as diversidades das amostras com alteração (experimento) e o controle, respectivamente. O valor de  $h_{\alpha}$  varia entre  $0 \leq h_{\alpha} \leq 1$ , se  $h_{\alpha} < 0,5$  implica que  $H_{\alpha}^e < H_{\alpha}^y$ , isto é, a diversidade dos valores de expressão dos genes na via é menor para a amostra alterada do que para o controle, enquanto que  $h_{\alpha} > 0,5$  representa o caso inverso [5,7].

Para determinar se uma alteração em uma via (atividade) ou em um conjunto de genes (diversidade) é estatisticamente significativa em um determinado estudo (glioblastoma ou glioblastoma tratado com radioterapia), aplica-se o método de bootstrap. Esse método é usado para calcular a distribuição amostral de  $h_{\alpha}$  e  $n_{\alpha}$  através de uma análise de reamostragem aleatória que cobre todos os genes do microarranjo com repetições que variam de 100 a 100.000 com as mesmas quantidades de genes das vias de interesse para investigar a convergência do valor de  $p$  ( $p$ -value) da amostra sobre uma distribuição de probabilidades normal. O nível de significância em uma distribuição de probabilidades serve para delimitar se os resultados da atividade ou diversidade relativa de um determinado conjunto de genes são ou não significativos a um determinado nível. Desta forma, se o nível de significância for fixado em 0,05 os valores de  $p$  menores que 0,05 ( $p < 0,05$ ) apresentaram aumento ou diminuição significativa de expressão da via em relação ao estudo. As análises mostradas acima podem ser calculadas usando o software *ViaComplex*. O software é um aplicativo usado para construir mapas funcionais de expressão gênica e utiliza a entropia de Shannon para obter um parâmetro quantitativo usado para caracterizar a atividade e a diversidade relativa de vias [19].

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aplicando as análises estatísticas com o uso do software *ViaComplex* foram obtidos os resultados significativos (marcados em cinza) mostrados na figura 1. Na figura observa-se 3 conjuntos de vias (reparo, apoptose e ciclo celular) que se dividem em: 7 subvias de reparo, 14 subvias de apoptose e 9 subvias de ciclo celular. Todas essas subvias têm funções diferenciadas entre o reparo das quebras simples e duplas do *DNA*, subvias de ativação e sinalização da morte

celular programada e diferentes subvias que provocam a parada do ciclo celular. Nos quadros cinza observam-se as significâncias de 5% (nos quadros onde não foram observadas alterações significativas não ocorreu mudança de cor), da atividade relativa (ATR) e diversidade relativa (DIV) das vias em GBM e GBM tratado com radioterapia.

Nesta figura 1 foram observados três resultados importantes: dois deles nas vias de resposta aos danos do *DNA* e apoptose onde foi encontrado um maior número de alterações significativas para o GBM tratado com radioterapia. Na via de ciclo celular o resultado se inverte e as alterações são maiores no tecido canceroso (não tratado). Esse último, por sua vez, mostra que em câncer há um acúmulo de mutações o que provoca um aumento da proliferação celular [7]. Ainda, pode-se observar que em algumas subvias de resposta aos danos do *DNA* há ativação de subvias envolvidas nas duplas quebras do *DNA* em tecidos tratados com radioterapia, é o que se observa nas duas alterações encontradas para a subvia de anemia de Fanconi, que está intimamente ligada a esse tipo de reparação de duplas quebras. A subvia apoptose – *homo sapiens* é uma subvia que interpreta de forma global a ativação, regulação e execução dos processos apoptóticos. Para o resultado do tecido tratado com radioterapia, observa-se que há uma diferenciação significativa dos genes envolvidos nesta via. Esse resultado expressa a ativação de proteínas que estão envolvidas diretamente na ativação destes processos apoptóticos. Com base nestes resultados propõe-se verificar as alterações nas vias somando-se as alterações nas subvias para se obter um resultado global do padrão de expressão em tecidos cancerosos e tratados com radioterapia.



Vias de Resposta ao Dano do DNA (RDD)	GLIOBLASTOMA		RADIOTERAPIA	
	ATR	DIV	ATR	DIV
<b>SUBVIAS</b>				
Reparo por excisão de bases				
Via da anemia de Fanconi				
Recombinação homóloga				
Reparo de bases mal pareadas				
Reparo por excisão de nucleotídeos				
Reparo por terminação não homologa				
Reparo das quebras em fitas duplas no DNA				
<b>Vias de Apoptose /Senescência Replicativa</b>				
<b>SUBVIAS</b>				
Sinalização TNFR1				
Sinalização TNFR2				
Sinalização do receptor TNF				
Receptor de sinalização de morte				
Sinalização da apoptose em RDD				
Indução da apoptose pelas receptores de morte DR3/4/5				
Apoptose - Homo sapiens				
Cascata de caspases em apoptose				
Regulação da apoptose				
Fase de execução da apoptose				
Via extrínseca de apoptose				
Granzima A mediador de apoptose				
Senescência Replicativa				
Ativação do NFKB				
<b>Vias de Ciclo Celular</b>				
<b>SUBVIAS</b>				
Ciclo celular: pontos de controle G1/S				
Fase S				
Ciclina e regulação do ciclo celular				
Pontos de controle G1/S do dano ao DNA				
Postos de controle G2/M				
Fase mitótica G2-G2/M				
Fase mitótica M-M/G1				
Pontos de controle do fuso mitótico				
RB/E2F				

Figura 1: Resultados das alterações em vias de resposta aos danos ao DNA (RDD), apoptose/senescência e ciclo celular. Em cinza (escuro) são mostrados os resultados significativos da atividade (ATR) e diversidade (DIV) relativa inferiores a 0,05, os resultados da atividade relativa e diversidade relativa em branco são resultados em que não houve significância estatística em GBM ou em GBM tratado com radioterapia.

Na figura 2 observa-se a taxa de alterações globais, entre o GBM e a doença tratada com radioterapia para as vias de resposta aos danos do DNA (reparo), apoptose e ciclo celular. Nas barras à esquerda é mostrada a taxa de alterações para GBM e nas barras à direita as alterações do GBM tratado com radioterapia. Esse resultado global mostra visivelmente as alterações nesses 3 conjuntos de subvias. Na figura 2 observa-se que há um aumento da expressão das vias de reparo e apoptose no GBM tratado com radioterapia (à direita) e uma diminuição do ciclo celular neste mesmo tecido. O oposto é observado para o reparo e a apoptose em câncer. Esses resultados em tecidos cancerosos já foram comprovados anteriormente por Simão e colaboradores em 2012. No modelo os autores mostram que em câncer de cólon, adrenal, pâncreas e tireóide, há diminuição da expressão das vias de reparo e apoptose. Ainda nestes tecidos, foi observada que há aumento do ciclo celular [7].

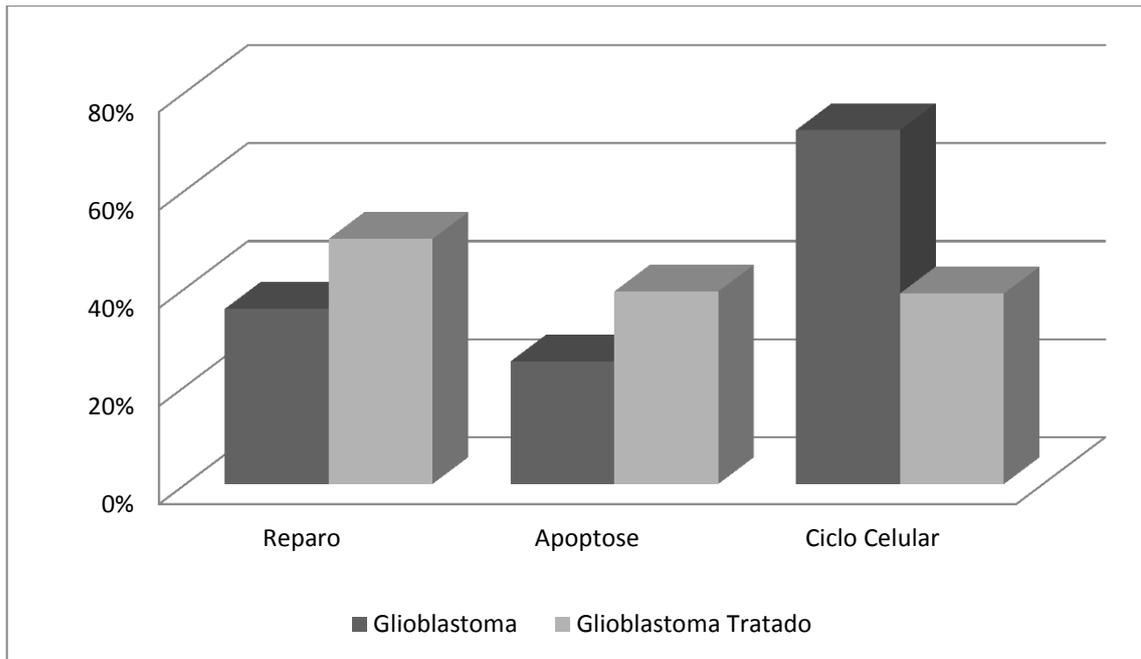


Figura 2: Taxa de alteração entre glioblastoma e glioblastoma tratado com radioterapia. As barras mostram as somas dos resultados significativos mostrados na figura 1.

Um comparativo entre os resultados encontrados para a expressão das vias MMG em GBM e em glioblastoma tratado com radioterapia e entre os resultados encontrados por Simão e colaboradores em 2012 é mostrado na figura 3.

No trabalho apresentado por Simão e colaboradores em 2012, foi proposta a ativação de uma barreira que impede a evolução do câncer em tecidos pré-cancerosos. O modelo proposto foi desenvolvido pela análise estatística da atividade e diversidade relativa para as mesmas vias utilizadas nesse trabalho. No trabalho proposto por Simão foram utilizados 4 tipos diferentes de adenoma e câncer: Tireóide, Pâncreas, Adrenal e Cólon. Os resultados apresentados por Simão mostraram que há ativação das vias de apoptose e resposta aos danos do *DNA* em adenoma, promovendo assim a ativação de uma barreira que impede a evolução do câncer. Se essa barreira não é atingida os tecidos passam a um estágio de proliferação alterada e perdem atividade das vias de apoptose e resposta aos danos [7]. Para o estudo apresentado neste trabalho, observa-se que ocorrem as mesmas alterações para GBM (GSE35493), validando assim esses resultados com os resultados apresentados por Simão.

Sendo assim a figura 3 evidência a diferença entre os genes do tecido pré-canceroso (adenoma), canceroso (câncer e GBM) e do GBM tratado com radioterapia. Na região à esquerda tem-se os resultados encontrados por Simão e colaboradores. Esses resultados mostram que em tecidos de adenoma há aumento da expressão das vias de resposta aos danos do *DNA* (reparo) e morte celular programada (apoptose) seguida pela diminuição das vias envolvidas na proliferação celular (ciclo celular). Esses resultados comprovam a ativação de uma barreira produzida pelas respostas aos danos do *DNA* e apoptose que impede a progressão ao câncer. Porém se essa barreira não é atingida os tecidos atingem um grau elevado de mutações que consequentemente provocará a desregulação destas duas vias (reparo e apoptose). Essa desregulação provoca a perda destes principais mecanismos de estabilidade genômica. Nos resultados abordados por Simão e colaboradores (figura 3 – à esquerda<sup>\*)</sup> é mostrada que em câncer essas vias de reparo e apoptose perdem a expressão, ou seja, diminuem seus níveis de resposta aos danos e morte celular programada. A perda destas funções provocada pelo grau evolutivo das mutações gênicas proporciona a perda da função regulatória do ciclo celular, com isso o câncer atinge altos índices de proliferação [7].

Nos resultados abordados pela análise de expressão do GBM e do GBM tratado com radioterapia (figura 3 – à direita<sup>#</sup>), foram observados alguns resultados que satisfazem o modelo proposto por Simão e colaboradores.

Para o câncer observou-se que a expressão das vias em GBM ocorre de forma semelhante a abordada por Simão. Ainda com base nesses resultados, para o GBM tratado com radioterapia observa-se o oposto. No tecido tratado observa-se que há uma diminuição do ciclo celular. Esse resultado indica que as células diminuem sua proliferação devido a interação da radiação com a matéria. Consequentemente tem-se um aumento significativo das vias de reparo e apoptose, indicando que há a resposta aos danos no *DNA* e morte celular também provocado pela interação da radiação com a matéria. Esse resultado é observado, uma vez que a radiação provoca a morte celular dos tecidos que é seguida pela ativação das vias de necrose tumoral que são ativadas para degradar os corpos apoptóticos [11].

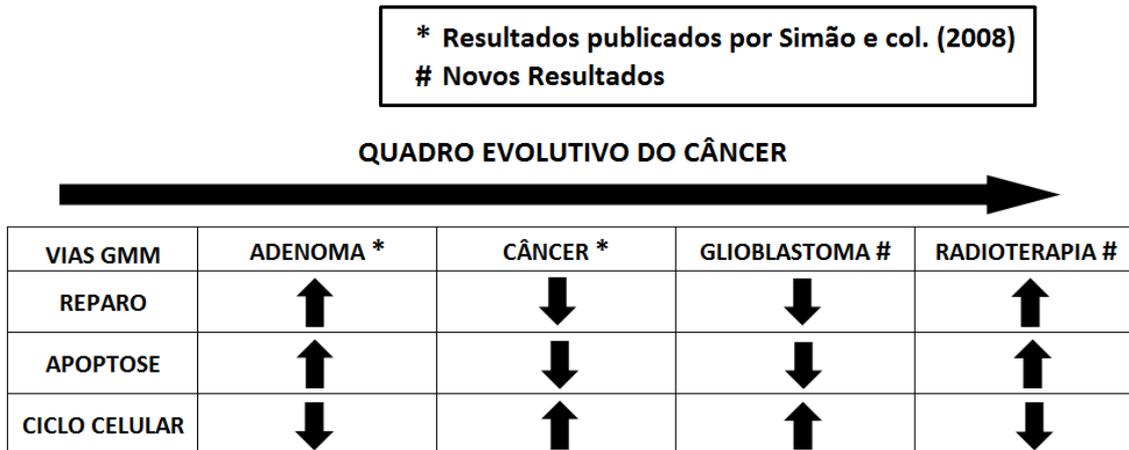


Figura 3: Quando evolutivo do desenvolvimento e tratamento do câncer. A esquerda estão os resultados encontrados por Simão e colaboradores (à esquerda - \*). Esses resultados mostram que em adenoma há aumento significativo das vias de reparo e apoptose seguido pela diminuição do ciclo celular. Em câncer (à esquerda - \*) esse resultado se inverte. A direita são apresentados os novos resultados (à direita - #), para um câncer tratado com radioterapia (glioblastoma tratado) e para o glioblastoma sem tratamento. No tecido tratado observa-se que houve novamente um aumento da apoptose e reparo seguido pela diminuição do ciclo celular.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho apresentam evidências de que há implicações da indução da morte celular programada pela interação da radiação com o meio biológico. Segundo Kondo, ocorrem falhas em algumas grupos funcionais relacionados as vias de ativação da necrose tumoral [12]: Sinalização do receptor *TNF* e ativação do *NFKB*. A via de Ativação da *NFKB* está envolvida em todo o processo de ativação do sistema imunológico [20]. A ativação deste processo ocorre devido a uma cascata de eventos provocado pela interação da radiação com o meio. Essa cascata inicia com a quebra dupla do *DNA* pela radiação, o que induz a parada do ciclo celular (subvias identificadas como: pontos de controle do G1/S do dano ao *DNA* e postos de controle G2/M) e ativa vias de reparo e apoptose [12]. Durante a ativação das vias de apoptose ocorre a formação de corpos apoptóticos, acarretando na ativação da necrose tumoral (indicado nos resultados pela via sinalização do receptor *TNF*) e em consequência ocorre a ativação da *NFKB* que induz a ativação do sistema imune [20]. Ocorre também a ativação de duas vias de resposta às quebras do *DNA*: anemia de Fanconi e reparo das quebras em fitas duplas do *DNA*.

Concluí-se que as radiações ionizantes têm a capacidade de alterar as características físico-químicas das moléculas de um determinado tecido biológico. A falência reprodutiva da célula está associada a uma resposta ligada a ativação da reparação após irradiação dos tecidos, enquanto a suscetibilidade à morte celular por apoptose é associada aos tecidos de resposta rápida [21].

Ainda, com base nessas evidências pode-se usar as técnicas estatísticas apresentadas nesse trabalho, para analisar microarranjos, com o propósito de quantificar as alterações nas vias de manutenção do genoma. Esse método proporciona a análise integral de muitas vias envolvidas em processos biológicos diversos, tais como: oxigenação tumoral, ativação de vias específicas do sistema imunológico, angiogênese e senescência. Como perspectivas futuras pretende-se investigar pelo método da mudança de expressão quais as principais proteínas que estão alteradas nas vias de manutenção do genoma aqui relacionadas.

1. Biral AR. Radiações Ionizantes para Médicos Físicos e Leigos. Florianópolis, SC: Isular, c2002. 232 p.
2. Weinberg RA. *The Biology of Cancer*, Garland Science, c2007.
3. Jefford CE, Irminger-Finger I, Mechanisms of Chromosome Instability in Cancers, *Oncology Hematology*. 2006; 59:1-14.
4. Hoeijmakers JHJ. Genome Maintenance Mechanisms are Critical for Preventing Cancer as Well as Other Aging-Associated Diseases. Elsevier. 2007; 128:460-62.
5. Castro, MAA, Mombach JCM, Almeida RMC, Moreira JC. Impaired Expression of NER Gene Network in Sporadic Solid Tumors. *Nucleic Acids Research*. 2007; 35:1859-67.
6. Simão EM, Cabral HC, Castro MAA, Sinigaglia M, Mombach JCM, Librelotto GR. Modeling the Human Genome Maintenance Network. *Physica A*. 2010; 389:4188-94.
7. Simão EM, Bugs CA, Castro MAA, Sinigaglia M, Librelotto GR, Mombach JCM. Induced Genome Maintenance Pathways in Pre-cancer Tissues Describe an Anti-cancer Barrier in Tumor Development. *Molecular BioSystems*. 2012; 8(11):3003-9.
8. INCA: Instituto Nacional do Câncer. Brasil, 1996 – [atualizado em 2014, citado em 16 de jul de 2014]. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/tratamento>.
9. Bergmann BR. A Nanotecnologia: Da Saúde para Além do Determinismo Tecnológico. *Ciência e Cultura*. 2008; 2(60):54-7.
10. Salvajoli V, Sauhami L, Faria SL. *Radioterapia em Oncologia*, Rio de Janeiro: Ed. Medsi; c1999. 1243 p.
11. Tahuata, L, Salati IPA, Prinzi RD, Antonieta RD. *Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos*, Rio de Janeiro: RJ: IRD/CNEN, c2001.
12. Kondo T. Radiation-Induced Cell Death and Its Mechanisms. *REM*. 2013; 1(2):1-4.
13. Gohlmann H, Talloen W. *Gene Expression Studies Using Affymetrix Microarrays*, New York: Ed. CRC Press, c2009.
14. GEO. Gene Expression Omnibus [Internet]. NCBI; 2002 – [atualizado em 10 de nov de 2013; citado em 15 de jan de 2014]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>
15. Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene Expression Omnibus: NCBI Gene Expression and Hybridization Array Data Repository. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30(1):207-10.
16. GSE7696: Glioblastoma From a Homogenous Cohort of Patients Treated Within Clinical Trial [Internet]. GEO, MI, USA, 2008 – [atualizado em 12 jun de 2008, citado em 15 de jan de 2014]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE7696>
17. GSE35493: Pediatric Rhabdoid Tumors of kidney and Brain Show Many Differences in Gene Expression But Share Dysregulation of Cell Cycle and Epigenetic Effector Genes [Internet] GEO, MI, USA, 2013 – [atualizado em 21 jan de 2013, citado em 15 de jan de 2014]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE35493>
18. Shannon CE. Prediction and Entropy of Printed English. *The Bell System Technical Journal*. 1951; 30:50–64.
19. Castro MAA, Filho JL, Dalmolin RJ, Sinigaglia M, Moreira JC, Mombach JCM, Almeida RM. ViaComplex: Software for Landscape Analysis of Gene Expression Networks in Genomic Context. *Bioinformatics*. 2009; 25(11):1468-69.
20. Sabatel H, Pirlot C, Piette J, Habraken Y. Importance of PIKKs in NF- $\kappa$ B activation by genotoxic stress. *Biochemical Pharmacology*. 2011; 82:1371–83.
21. Segreto HRC, Segreto RA. Revisão e Atualização em Radiobiologia: Aspectos Celulares, Moleculares e Clínicos. *Folha Médica*. 2000; 119:9–27.