

EXPRESSÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR-BETA EM MUCOSA ORAL SUBMETIDA À RADIOTERAPIA. UMA REVISÃO CRÍTICA DA LITERATURA

EXPRESSION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR – BETA IN ORAL MUCOSA SUBMITTED TO RADIOTHERAPY. A CRITICAL LITERATURE REVIEW

Lara Correia Pereira*, Gabriela Botelho Martins**

RESUMO

A radiação ionizante é uma das terapias utilizadas para o tratamento de neoplasias malignas de cabeça e pescoço. Todavia, pode causar complicações agudas, como mucosite, e complicações crônicas, como fibrose tecidual. A radioterapia promove aumento na deposição de colágeno e incrementa a expressão e ativação precoce do fator de crescimento transformador – beta, que pode culminar nessa fibrose. O fator de crescimento transformador - beta é uma citocina multifuncional, excretada sob forma latente, com importante função na modulação do sistema fibroblasto-fibrocyto, estimulando a síntese e depósito de colágeno, atuando no reparo tecidual, e diminuindo a sua degradação, especialmente em tecido irradiado. A presente revisão de literatura tem como objetivo esclarecer a relação da expressão do fator de crescimento transformador - beta em tecidos submetidos à radiação ionizante utilizada para tratamento antineoplásico, em especial na mucosa oral e reparo tecidual em lesões do tipo mucosite, realizando uma análise crítica dos trabalhos avaliados.

PALAVRAS-CHAVE

Radioterapia. Colágeno. Fator transformador de crescimento beta. Mucosa bucal. Regeneração.

ABSTRACT

Ionizing radiation is a form of therapy used for the treatment of malignancies of head and neck. However, it can cause acute complications such as mucositis, and chronic complications, such as tissue fibrosis. Radiation promotes increase in collagen deposition and increases the expression and activation of the Transforming Growth Factor - beta, which may result in this fibrosis. The transforming growth factor - beta is a multifunctional cytokine, excreted latent, with an important role in the modulation of the fibroblasts- fibrocytes, stimulating synthesis and deposition of collagen, acting on tissue repair and decreasing its degradation, especially in tissue irradiated. This literature review aims to clarify the relationship between the expression of transforming growth factor - beta in tissues submitted to ionizing radiation used for anticancer treatment, particularly in the oral mucosa and wound repair in lesions with mucositis, performing a critical analyses of the assessed work.

KEY-WORDS

Radiotherapy. Collagen. Transforming growth factor beta. Oral mucosa.

1 INTRODUÇÃO

A radiação ionizante é uma das opções de tratamento para neoplasias malignas de cabeça e pescoço. Todavia, sua ação não se dá somente no tecido tumoral, mas também nos tecidos normais. O mecanismo de ação pode ser direto e indireto no DNA celular, e os tecidos compostos por células lábeis são os mais afetados (HOM;

ADAM; MONYAI, 1995; JHAM; FREIRE, 2006; RIEKKI et al., 2000; VOLPATO et al., 2007).

A mucosite é uma intercorrência frequente e muitas vezes debilitante nos pacientes sob tratamento antineoplásico, o que pode culminar no desenvolvimento de outras complicações, interferindo no curso do tratamento, no controle local tumoral e, conseqüentemente, na sobrevida do paciente (BONAN et al., 2005; JHAM; FREIRE, 2006; VOLPATO et al., 2007). Outra complicação comum é a fibrose, encontrada nos tecidos após tratamento radioterápico, uma vez que a radiação ionizante pode causar um aumento na deposição de colágeno e mudanças no seu metabolismo, verificando-se maturação relativa das fibras colágenas (CROMACK et al., 1993; MATTOS et al., 2002; RIEKKI et al., 2000).

O fator de crescimento transformador beta (TGF- β) é uma citocina multifuncional responsável por inúmeras funções em diferentes tipos

Correspondence author: Dra. Gabriela Botelho Martins. Avenida Silveira Martins, 3386, Cabula – CEP 41150-100 – Salvador-BA. Telefone: (71) 3257-8200/ (71) 9187-4181. gbmartinsba@hotmail.com.

* Aluna do curso de Pós-Graduação em Odontologia pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (Estomatologia). laucpereira@hotmail.com.

** Doutora em Estomatologia Clínica pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Professora adjunto do curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. gbmartinsba@hotmail.com.

Received: 03/2010

Accepted: 04/2010

celulares (BARNARD; LYONS; MOSES, 1990). CROMACK et al. (1993) relataram que o TGF- β é bifuncional, atuando como regulador do crescimento e diferenciação celular. Atua ainda no processo de reparo tecidual, sendo que, na mucosa oral, este processo de cicatrização é acelerado, comparado com tecido cutâneo (CROMACK et al., 1993; SCHREMENTI et al., 2008). O TGF- β pode estimular a proliferação de fibroblastos normais, de células não epiteliais, entre outras, e é um forte estimulador da síntese e depósito de proteínas da matriz extracelular (MEC) por parte dos fibroblastos, osteoblastos e células endoteliais, podendo culminar na formação de fibrose local (BARNARD; LYONS; MOSES, 1990; SCHREMENTI et al., 2008; ZARAGOZA; MARTINEZ; MARINA, 2001).

A radiação ionizante pode estimular a cascata de ativação de genes, transcrição e síntese de proteínas que têm a função de permitir a sobrevivência da célula após a injúria por radiação. Inclui-se nesse processo a ativação de fatores como TGF- β , fator de necrose tumoral (TNF) e fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) (SPORN; ROBERTS, 1992). Já foi observado que a radiação ionizante pode ativar a proteína TGF- β 1 em células da glândula mamária, em células cardíacas e células do parênquima pulmonar (AFFONSO-JÚNIOR et al., 2004; MARIANO, 2008; MATTOS et al., 2002).

A literatura sugere hipóteses que relacionam a radiação ionizante com a expressão do TGF- β em diversos tecidos e aumento na produção de colágeno gerando fibrose local. No entanto, não se contemplou esta atuação no que diz respeito à mucosa oral. Desta forma, o objetivo desse estudo foi explorar a literatura atual para melhor entender a relação da expressão do TGF- β em mucosa oral submetida à radiação ionizante normalmente utilizada no tratamento das neoplasias malignas da região de cabeça e pescoço, mais especificamente relacionado ao reparo tecidual das lesões de mucosite, realizando uma análise crítica dos trabalhos avaliados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A radioterapia é uma opção de tratamento para os tumores malignos de cabeça e pescoço, cujo agente terapêutico é a radiação ionizante, tornando o meio eletricamente instável (JHAM; FREIRE, 2006; SEGRETO; SEGRETO, 2000). Seu efeito biológico ocorre através da transferência linear de energia, que representa a liberação da radiação por unidade de espaço (meio) percorrido, o que é importante na capacidade de penetração no meio absorvedor; e através da taxa de dose, que é a quantidade de energia liberada num determinado tempo (SEGRETO; SEGRETO, 2000).

A ação da radiação ionizante nos tecidos pode ocorrer através do efeito direto, pela interação direta nos componentes celulares (DNA, proteínas e lipídeos) representando 30% de sua atividade; ou do efeito indireto, responsável por 70% da sua ação, através da ligação com o

meio constituinte celular produzindo radicais livres (JHAM; FREIRE, 2006; SEGRETO; SEGRETO, 2000).

Os efeitos agudos da radioterapia levam a mucosites, alterações das glândulas salivares, xerostomia, e o risco de infecções bucais. As agressões da radiação ionizante aos tecidos moles são provocadas pela obliteração dos microvasos, excessiva fibrose e alterações cromossômicas em células normais, que dependem do volume e do local irradiado, da dose total, do fracionamento, da idade e condição clínica do paciente (AUGUST et al., 1996; HOM; ADAM; MONYAI, 1995; JHAM; FREIRE, 2006; SEGRETO; SEGRETO, 2000).

Segundo HOM et al. (1995), a fibrose tecidual é uma complicação crônica induzida pela radioterapia, sendo progressiva, dose dependente e permanente. O tecido irradiado se torna mais susceptível ao trauma, infecção e irritação, devido ao decréscimo da vasculatura e aumento da deposição de fibras colágenas. Parte dessa resposta fibrótica é induzida pelo TGF- β e parece estar relacionada à modulação do sistema fibroblasto-fibrócito, levando ao acúmulo de colágeno tipo I e III (HOM; ADAM; MONYAI, 1995; RUIFROK; McBRIDE, 1999). Ou seja, a radiação ionizante isolada é capaz de induzir a diferenciação prematura de fibroblastos em fibrócitos levando a um aumento da síntese de colágeno intersticial (RODEMANN; BOMBERG, 1995). Além disso, dentre as ações do TGF- β , pode-se citar a diminuição da degradação do colágeno, que intensifica a formação de sua fibrose local (AFFONSO-JÚNIOR et al., 2004; PHILIPP et al., 2004; RIEDEL et al., 2007; RODEMANN; BOMBERG, 1995).

Dessa forma, a agressão tecidual causada pela radioterapia leva a um processo de reparo semelhante à inflamação local, formando colágeno, porém a formação dessas fibras sofrem modificações metabólicas (MARIANO, 2008).

O colágeno é uma molécula polipeptídica responsável por aproximadamente um terço da proteína total do organismo de mamíferos. Sua síntese se dá através dos fibroblastos sendo secretado para o meio extracelular na forma de molécula de procolágeno. Na matriz conjuntiva, as fibrilas de colágeno não maduro iniciam o processo de estabilização e organização de suas fibras através de ligações covalentes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

O TGF é uma citocina que faz parte da super família de polipeptídeos e tem a função multifuncional da proliferação e diferenciação de amplas variedades celulares (SEGRETO; SEGRETO, 2000). Existem várias isoformas do TGF- β que podem ser designadas como TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4 e TGF- β 5. As isoformas 1, 2 e 3 são codificadas pelos cromossomos humanos 19q13, 1q41 e 14q24, e as isoformas 4 e 5 são identificados em aves e anfíbios, respectivamente. Entre os mamíferos, a sequência de aminoácidos do TGF- β 1 é altamente conservada já que é idêntica entre os humanos e bovinos, e difere em somente um aminoácido nos ratos (BARNARD; LYONS; MOSES, 1990).

A excreção inicial do TGF- β se dá sob a forma inativa, sendo um complexo formado de união de peptídeos maduros e precursores do TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 conhecido como peptídeo associado à latência – LAP, que precisa ser clivado para que o fator exerça sua função (BARNARD; LYONS; MOSES, 1990; RUIFROK; McBRIDE, 1999).

O TGF- β latente, também chamado de pré-pró-TGF- β , é composto por uma grande molécula com 390 aminoácidos. A primeira clivagem molecular ocorre no aminoácido-29, através de uma glicolização no peptídeo Glicina – Leucina transformando-se em pró-TGF- β . A clivagem proteolítica da segunda fase de ativação ocorre no aminoácido-278, separando-o do glicopeptídeo aminoterminal, formando o TGF- β maduro. O TGF- β biologicamente ativo é uma polipeptídeo dimérico composto por 112 aminoácidos (LYONS; MOSES, 1990).

LYONS et al.(1990) sugeriram que a secreção do TGF- β ativo não possibilitaria uma resposta apropriada nos órgãos, tecidos e células, devido a sua atuação endócrina ou parácrina, justificando a sua latência inicial (LYONS; MOSES, 1990).

No reparo tecidual o TGF- β é ativado e produzido em resposta a estímulos, incluindo a plasmina, trombose e oxigênio reativo (SCHREMENTI et al., 2008). SEGRETO et al. (2000) sugerem que a ativação precoce do TGF- β nos tecidos submetidos à radioterapia seria consequente ao estresse oxidativo induzido pelos radicais livres produzidos pela radiação ionizante e a elevação continuada e tardia da proteína devido aos mecanismos celulares via plasmina (SEGRETO; SEGRETO, 2000). A plasmina é uma protease que ativa o TGF- β latente in vivo (MATTOS et al., 2002).

A ativação do TGF- β tem sido detectada após 30 e 90 dias da aplicação da radiação ionizante, e é possível que nos períodos iniciais, entre um e 14 dias depois da irradiação, já tenha ocorrido ativação da proteína TGF- β 1, porém de forma discreta, sendo que a baixa concentração da proteína não parece permitir sua detecção por imunistoquímica (AFFONSO-JÚNIOR et al., 2004).

Segundo CHEN et al. (2005), os níveis de TGF- β no plasma decresceram após quimio e radioterapia nos pacientes que também desenvolveram dermatites e mucosites, podendo ser essa uma explicação do desenvolvimento dessas alterações (CHEN et al., 2005). Em seu estudo com 18 pacientes diagnosticados com carcinoma epitelial de nasofaringe sob tratamento de radioterapia e /ou quimioterapia, os autores avaliaram os níveis de TGF- β no plasma desses pacientes pré e pós tratamento radioterápico, observando que nos indivíduos possuidores de altos níveis de TGF- β pré-tratamento houve um decréscimo pós-terapia, sendo estes os pacientes que mais sofreram com as complicações inerentes ao tratamento. O oposto ocorreu nos pacientes que possuíam baixos níveis de TGF- β pré-tratamento radioterápico e altos níveis pós-tratamento.

A mucosite é uma das mais significantes toxicidades não-hematológicas associadas à radioterapia, que ocorre devido à indução da morte celular por apoptose pela terapia anticâncer (SONIS, 2002). SONIS (2002) sugere que o fator nuclear – Kappa B (NF- β B) que tem ação pro-apoptose ou antiapoptose, quando ativado, pode ser o fator determinante para o fato do tecido da mucosa normal ser exposto à citotoxicidade da terapia anticâncer (SONIS, 2002). SCULY et al. (2006) relataram ainda a formação de oxigênio reativo como superóxido (SCULLY; SONIS; DIZ, 2006).

A mucosite radioinduzida clinicamente é caracterizada como um eritema que ocorre em doses acumulativas de radiação de cabeça e pescoço a partir de 10 Gy, seguida da formação de úlceras que geram desconforto ao paciente em doses de radiação acumulativa de 30 Gy, além da possibilidade de ocorrência de infecções oportunistas nos pacientes (SCULLY; SONIS; DIZ, 2006).

Para que ocorra o reparo tecidual da mucosite tem-se a necessidade de produção e ativação de TGF- β . Todavia, em um tecido onde o sistema fibroblasto-fibrócito está modificado devido à radiação ionizante, onde há o aumento da expressão e ativação precoce do TGF- β , o tecido em reparo pode expressar diferentes concentrações de TGF- β , culminado no aumento da fibrose tecidual local.

Na mucosa oral, o reparo tecidual é acelerado e com mínima cicatriz quando comparado com tecido cutâneo, principalmente nas primeiras 24 horas, devido à influência local do TGF- β , pelo aumento da expressão gênica do seu RNAm, como descritos por SCHREMENTI et al. (2008). O mecanismo de reparo tecidual acelerado por TGF- β no tecido radioinduzido foi avaliado por CROMACK et al. (1993) através da injeção de TGF- β 1 após irradiação corporal total, observando a melhora até 133% no reparo, na qualidade do tecido ou no reparo como um todo, quando comparado com o não uso da injeção de TGF- β 1, confirmando assim a interferência do TGF- β no reparo tecidual após irradiação (CROMACK et al., 1993).

Uma informação importante é de que os queratinócitos que atuam no reparo tecidual, controlando a inflamação e remodelação tecidual, parecem ter a capacidade de produzir fatores de crescimento como o TGF- β , posto que RIEDEL et al (2007) avaliaram 10 espécimes de tecidos excisados cirurgicamente in vitro e por imunistoquímica culturas celulares de queratinócitos da epiderme humana, verificando sua expressão nessas células, aumentando também a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), controlando a inflamação local, culminando em reparo tecidual (RIEDEL et al., 2007).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo a literatura estudada, a radiação ionizante, embora seja uma terapia eficiente contra neoplasias de cabeça e pescoço, pode causar efeitos colaterais agudos, como a mucosite, e efeitos crônicos,

como a fibrose tecidual. A radioterapia também pode causar o aumento na expressão de TGF- β e sua ativação precoce, culminando uma mudança no metabolismo das fibras colágenas no reparo tecidual, incrementando a fibrose local. Outro ponto observado é que a mucosite ocasionada pelo tratamento antineoplásico, no momento de reparo tecidual, estimula a produção de TGF- β que, somado com a injúria por radiação evidencia um aumento da ativação e estimulação dessa citocina, culminando com aumento da fibrose local.

4 REFERÊNCIAS

- AFFONSO-JÚNIOR, R.J.; OSHIMA, C.T.F.; KIMURA, E.T.; et al. Expressão da proteína TGF- β 1 em coração irradiado in vivo. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 107-113, 2004.
- AUGUST, M.; WANG, J.; PLANTE, D.; WANG, C.C. Complications associated with therapeutic neck radiation. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 54, n. 12, p. 1409-1415, 1996.
- BARCELLOS-HOFF, M.H.; DERYNCK, R.; TSANG, M.L.S.; WEATHERBEE, J.A. Transforming growth factor - β activation in irradiated murine mammary gland. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 93, n. 2, p. 892-899, 1994.
- BARNARD, J.A.; LYONS, R.M.; MOSES, H.L. The cell biology of transforming growth factor- beta. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1032, n. 1, p. 79-87, 1990.
- BONAN, P.R.F.; LOPES, M.A.; ALVES, F.A.; ALMEIDA, O. P. Aspectos clínicos, histopatológicos e tratamentos propostos para a mucosite oral induzida por radioterapia: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 3, p. 235-242, 2005.
- CHEN, H.W.; CHANG, Y.C.; LAI, Y.L.; et al. Change of plasma transforming growth factor- β 1 levels in nasopharyngeal carcinoma patients treated with concurrent chemo-radiotherapy. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, Tokyo, v. 35, n. 8, p. 427-432, 2005.
- CROMACK, T.D.; PORRAS-REYES, B. ; PURDY, A.J.; PIERCE, G.F.; MUSTOE, T.A. Acceleration of tissue repair by transforming growth factor β 1: Identification of in vivo mechanism of action with radiotherapy-induced specific healing deficits. **Surgery**, v. 113, n. 1, p. 36-42, 1993.
- HOM, D.B.; ADAM, G.L.; MONYAI, D. Irradiated soft tissue and its management. **Otolaryngol. Otolaryngologic Clinics of North American**, Philadelphia, v. 28, n. 5, p. 1003-1019, 1995.
- JHAM, B.C.; FREIRE, A.D.D.A.S. Complicações bucais da radioterapia em cabeça e pescoço. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 72, n. 5, p. 704-708, 2006.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 285, 1999.
- LYONS, R.M.; MOSES, H.L. Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 187, n. 3, p. 467-473, 1990.
- MARIANO, T.A. Avaliação das alterações do reparo tecidual em mucosa bucal submetida à radioterapia. **Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública**, Salvador, 2008.
- MATTOS, M.D.; KIMURA, E.D.; SILVA, M.R.R.; EGAMI, M.I.; SEGRETO, R.A.; SEGRETO, H.R.C. Ativação da proteína TGF- β 1 latente em pulmão irradiado in vivo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 48, n. 4, p. 329-334, 2002.
- PHILIPP, K.; RIEDEL, F.; SAUERBIER, M.; HÖRMANN, K.; GERMANN, G. Targeting TGF- β in human keratinocytes and its potential role in wound healing. **International Journal of Molecular Medicine**, Athens, v. 14, n.4, p. 589-593, 2004.
- RIEDEL, K.; RIEDEL, F.; GOESSLER, U.R.; GERMANN, G.; SAUERBIER, M. TGF- β antisense therapy increases angiogenic potential in human keratinocytes in vitro. **Archives of Medical Research**, Mexico, v. 38, n. 1, p. 45-51, 2007.
- RIEKKI, R.; JUKKOLA, A.; SASSI, M.L.; et al. Modulation of skin collagen metabolism by irradiation: collagen synthesis in increased in irradiated human skin. **The British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 142, n. 5, p. 874-880, 2000.
- RODEMANN, H.P.; BOMBERG, M. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. **Radiotherapy and Oncology**, Amsterdam, v. 35, n. 2, p. 83-90, 1995.
- RUIFROK, A.C.C.; McBRIDE, W.H. Growth factors: biological and clinical aspects. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, Elmsford, v. 43, n. 4, p. 877-881, 1999.
- SCHREMENTI, M.E.; FERREIRA, A.M.; ZENDER, C.; DIPIETRO, L.A. Site-specific prodtion of TGF- β in oral mucosal and cutaneous wounds. **Wound Repair and Regeneration**, St. Louis, v. 16, n. 1, p. 80-86, 2008.
- SCULLY, C.; SONIS, S.; DIZ, P.D. Mucosal diseases series. **Oral Diseases**, Houndmills, v. 12, n. 3, p. 229-241, 2006.
- SEGRETO, H.R.C.; SEGRETO, R.A. Revisão e atualização em radiobiologia. Aspectos celulares, moleculares e clínicos. **Folha Médica**, Rio de Janeiro, v. 119, n. 4, p. 9-27, 2000.
- SONIS, S.T. The biological role for nuclear factor-kappa B in disease and its potential involvement in mucosal injury associated with anti-neoplastic therapy. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, Boca Raton, v. 13, n. 5, p. 380-389, 2002.

SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B. Transforming growth factor- beta: recent progress and new challengers. **The Journal of Cell Biology**, v. 119, n. 5, p. 1017-1021, 1992.

VOLPATO, L.E.R.; SILVA, T.C.; OLIVEIRA, T.M.; SAKAI, V.T.; MACHADO, M.A.A.M. Mucosite bucal radio e quimioinduzida. **Revista Brasileira de Otorrinolarigologia**, São Paulo, v. 73, n. 4, p. 562-568, 2007.

ZARAGOZA, O.P.; MARTINEZ, L.A.; MARINA, M.V. Factor de crecimiento transformante beta-1: estructura, función y mecanismos de regulación em cancer. **Salud Pública de México**, Cuernavaca, v. 43, n. 4, p. 340-351, 2001