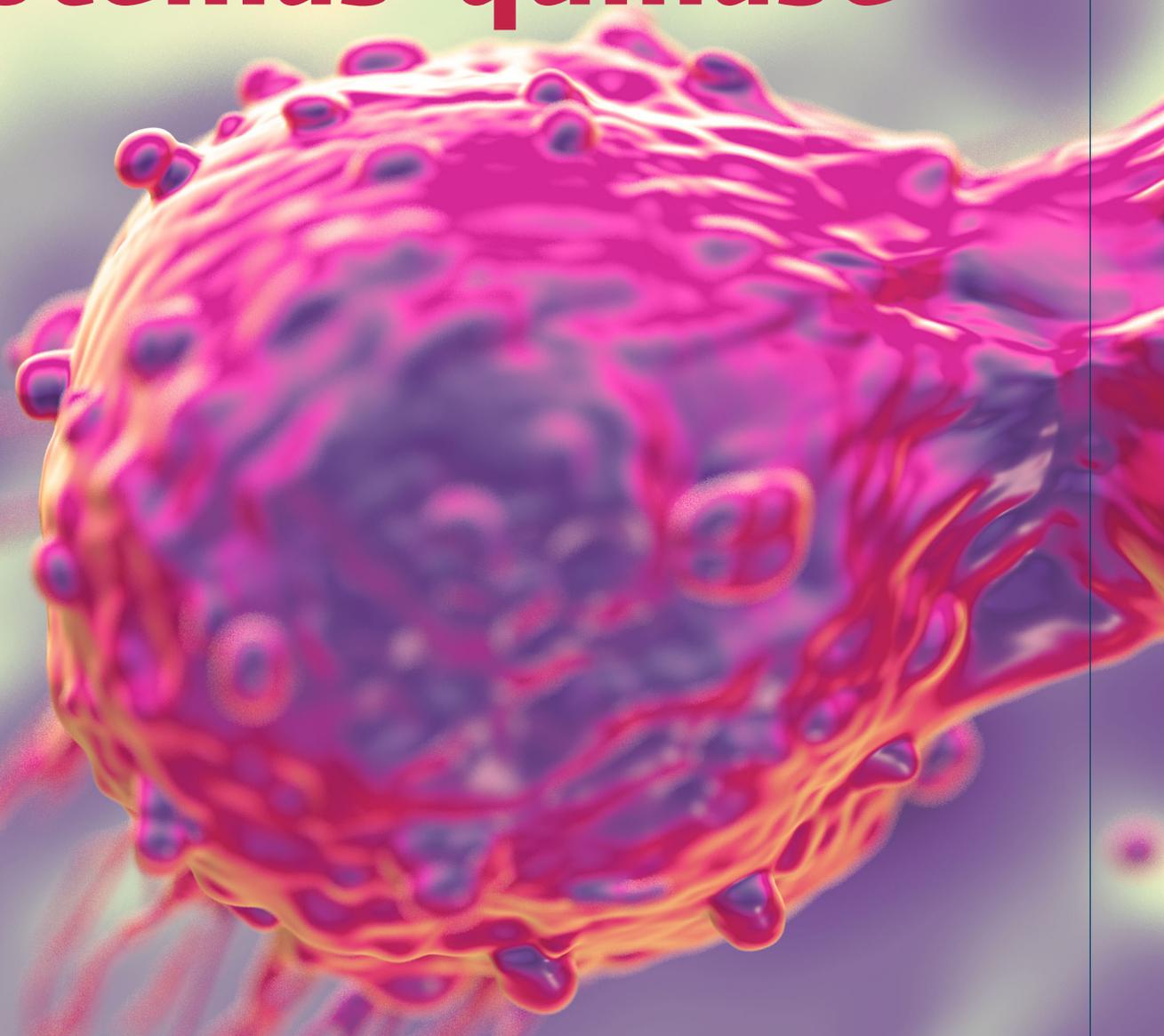


# Gene *SRC* e a família *SRC* de proteínas-quinase



**Carlos Alberto Machado da Rocha<sup>1</sup>, Carla Mariana Ferreira Pessoa<sup>2</sup>, Nubia Lorena Farias Rabelo<sup>3</sup>, Rommel Rodríguez Burbano<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Campus Belém, Belém, PA

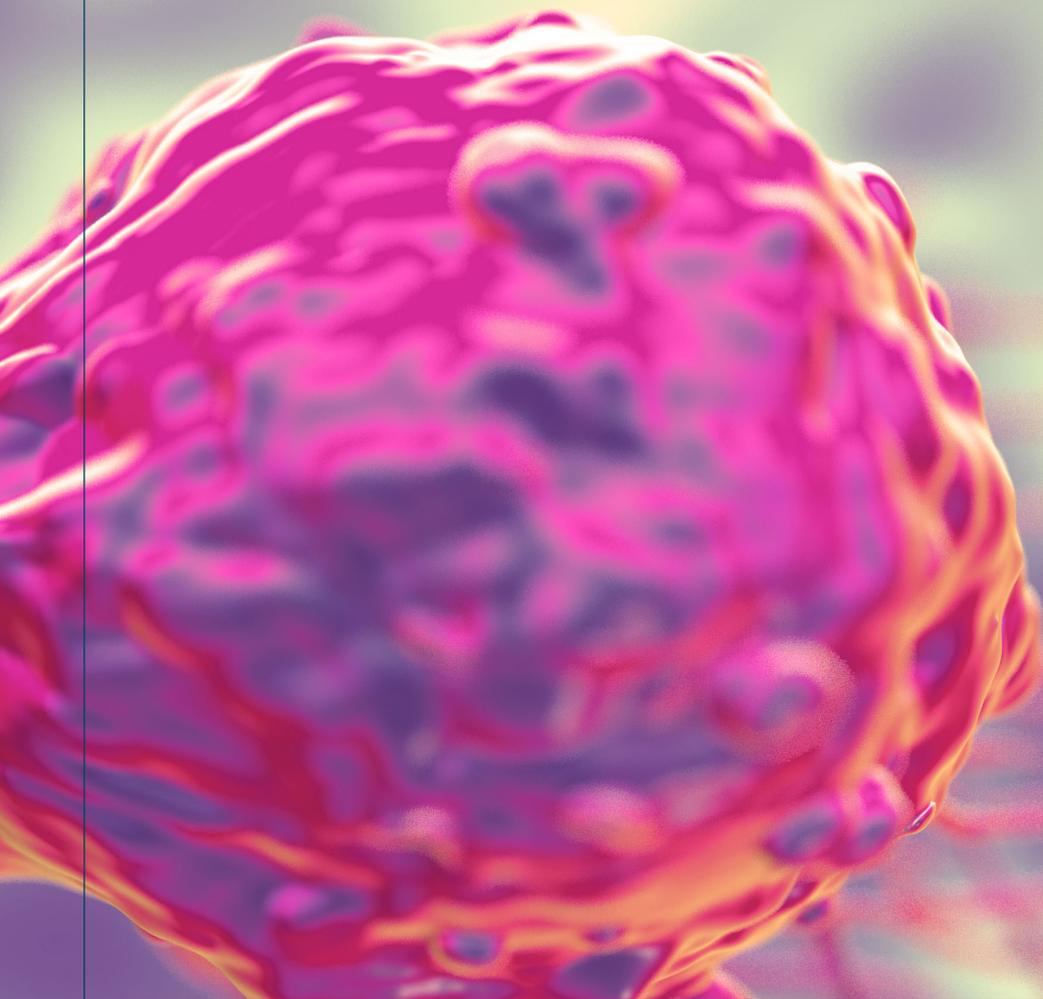
<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA

<sup>3</sup> Licenciada em Ciências Biológicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Belém, PA

<sup>4</sup> Laboratório de Citogenética Humana, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA

Autor para correspondência: carlos.rocha@ifpa.edu.br; camrocha@hotmail.com

**Palavras-chave:** câncer, família *SRC*, terapias-alvo, tirosina-quinases



O gene *c-Src* foi o primeiro proto-oncogene descrito, em galinhas, identificado como homólogo celular do gene *v-Src*, do vírus do sarcoma de Rous, responsável por transformar células normais em cancerosas. *c-Src* codifica a proteína *c-Src*, uma tirosina-quinase capaz de fosforilar resíduos de tirosina em diversas proteínas, participando da sinalização celular que ativa processos como a proliferação de células. O artigo apresenta o gene *c-SRC* que, em humanos, localiza-se no cromossomo 20 e a proteína *SRC*, o membro protótipo da família *SRC* de tirosina-quinases não receptoras. Mutações em genes da família *SRC* têm sido implicadas no desenvolvimento e metástase de tumores humanos e o conhecimento dessas mutações vem possibilitando tratamentos com terapias-alvo utilizando inibidores de tirosina-quinases.

## O PAPEL DAS TIROSINA-QUINASES E SUAS PRINCIPAIS CLASSES

A maior família de proteínas em eucariotos é a das proteína-quinases (proteína-cinases) que são enzimas catalisadoras da fosforilação de outras proteínas por meio da transferência de um grupo fosforil geralmente do ATP e, em casos excepcionais, de GTP, para um determinado resíduo de treonina (Thr), serina (Ser) ou tirosina (Tyr) da proteína-alvo. A fosforilação desses resíduos promove eventos ou sinalizações extra e intracelulares, que fornecem um mecanismo altamente eficiente para o controle da atividade de proteínas. A remoção de grupos fosforil dessas proteínas é catalisada por proteína-fosfatases. Para que se tenha uma ideia da magnitude desses eventos, cerca de 30% de todas as proteínas humanas contêm fosfato em ligação covalente e o genoma humano codifica em torno de 520 proteína-quinases e em torno de 150 proteína-fosfatases.

Proteínas tirosina-quinases (PTKs, do inglês *protein tyrosine kinases*) podem regular a divisão celular, diferenciação celular, adesão celular, crescimento celular, respostas ao estresse, apoptose, transporte de íons e sinalização extracelular, entre outros processos. PTKs são envolvidas na sinalização celular e, como o nome indica, fosforilam resíduos de tirosina. No estado ativado, as tirosina-quinases fosforilam a si e a determinadas proteínas mediadoras que ativam cascatas de outras fosforilações. Há duas classes principais dessas enzimas: tirosina-quinases receptoras (proteínas transmembrana, ativadas por um ligante extracelular); tirosina-quinases não receptoras (proteínas citoplasmáticas, reguladas por diferentes mecanismos).

As tirosina-quinases citoplasmáticas representam um terço das tirosina-quinases e são enzimas ativadas por certos receptores de superfície celular (receptores associados a tirosina-quinase) que transmitem o sinal do receptor adiante por meio da fosforilação de proteínas-alvo citoplasmáticas nas cadeias laterais de tirosina. Os receptores associados a tirosina-quinase não têm atividade enzimática intrínseca, mas recrutam, diretamente, proteínas tirosina-quinases citoplasmáticas para transmitir o sinal.

As principais famílias de PTKs não receptoras incluem SRC, ABL e JAK. A fosforilação de proteínas por tirosina-quinases não receptoras é reversível e frequentemente utilizada para controlar os sinais intracelulares para o núcleo induzindo alterações conformacionais no local de ligação ativo das proteínas fosforiladas, provocando a ativação ou inibição da atividade.

## O GENE SRC

Há pouco mais de um século, Peyton Rous descobriu que um **sarcoma** em galinhas domésticas era transmissível de uma ave a outra pelo extrato do tumor passado por um filtro muito fino para conter células de galinha ou mesmo bactérias. Em outras palavras, o agente indutor do tumor era um vírus, mais tarde conhecido como o Vírus do Sarcoma de Rous (RSV). Ao longo dos 20 anos seguintes, os estudos sobre RSV renderam uma mistura incrivelmente rica de informações novas e surpreendentes, dentre as quais a de que a **transformação celular** era causada por um único gene (*v-Src*).

Na década de 1970, um trabalho conjunto de J. Michael Bishop e Harold Varmus visou produzir uma **sonda de DNA** que reconhecesse especificamente, no genoma de RSV, sequências associadas à transformação (ou seja, sequências *Src*), para compreender melhor suas origens e funções. Porém, ao final do experimento, houve uma interessante surpresa. Os pesquisadores observaram que as sequências *Src* também estavam presentes nas células não-infectadas. Após uma cuidadosa caracterização dessas sequências *Src*, ficou estabelecido que elas ocorrem normalmente em galinhas, além de em outras aves e mamíferos, variando apenas o grau de similaridade.

O gene *c-Src*, que codifica a proteína tirosina-quinase não receptora *c-Src*, foi o primeiro **proto-oncogene** a ser descrito, ao ser identificado como o homólogo celular de *v-Src*, o fator de transformação do retrovírus do sarcoma de Rous. Em humanos, o *c-SRC* localiza-se no braço longo do cromossomo 20 (banda 20q11.23) (Figura 1), é constituído por 61,36 kb, entre os pares de bases 37.344.685 e 37.406.045, apresentando 14 éxons.

O termo **Sarcoma** deriva do grego e significa “crescimento carnos”. É um tipo de câncer relativamente raro, causado pela proliferação de células de origem mesodérmica, que pode atingir ossos, músculos, cartilagens, tecido adiposo e vasos sanguíneos. Pode ser encontrado em qualquer parte do corpo, mas é mais comum desenvolver-se nas pernas e braços.

**Transformação celular** é o processo de conversão de uma célula normal em uma célula contendo alguns ou muitos dos atributos de uma célula cancerosa.

**Sonda de DNA** é um DNA fita simples, de tamanho pequeno (geralmente entre 50 e 300 bases), que está marcado com uma substância radiativa ou conjugado a um produto que permita sua posterior visualização. Assim, o objetivo de uma sonda é encontrar (hibridizar com) um trecho de um DNA para o qual ela seja pelo menos parcialmente complementar e, em seguida, permitir que sua localização seja identificada.

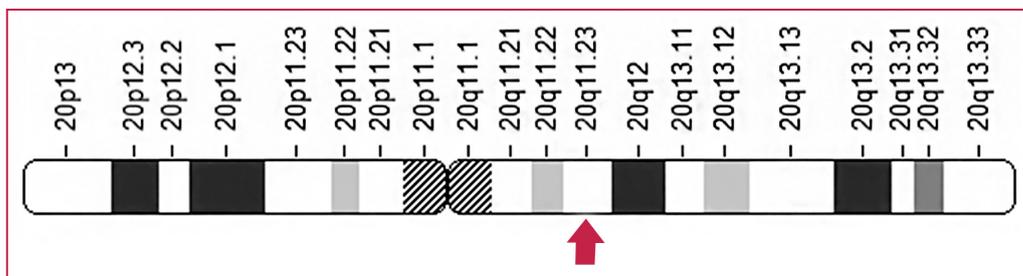
**Proto-oncogene** é um gene envolvido no crescimento (proliferação) celular normal. Mudanças (mutações) em um proto-oncogene podem fazer com que ele se torne um oncogene, o que pode causar o crescimento de células cancerosas.

**Splicing alternativo** é um processo que integra a regulação da expressão gênica, no qual certos éxons podem ser incluídos ou excluídos do RNAm produzido por determinado gene, resultando na codificação de mais de uma proteína por um mesmo gene.

O RNA transcrito primário contém íntrons e éxons. Antes que ocorra a tradução, os íntrons precisam ser removidos e os éxons do transcrito são, então, ligados uns aos outros, do que resulta o mRNA maduro. Esse complexo processo de recomposição é

chamado *splicing*. O transcrito primário do gene *SRC* sofre um **splicing alternativo**, produzindo dois mRNA maduros, cada um a partir de 12 éxons. Como resultado podem ser sintetizadas duas **isoformas** da proteína *SRC*.

**Isoformas** são formas distintas de uma proteína, que podem ser geradas por genes diferentes, porém relacionados, ou geradas pelo mesmo gene através do processo de *splicing* alternativo. As isoformas podem ser expressas em compartimentos subcelulares diferentes ou em tecidos diferentes.



**Figura 1.**  
**Localização do gene *SRC*.**  
São mostradas as bandas do cromossomo 20, com a seta indicando a localização do gene na banda 20q11.23.

**Sequência canônica** é a sequência consenso usada para descrever todos os produtos proteicos codificados por um gene em determinada espécie. A escolha dessa sequência baseia-se em critérios como a maior prevalência e maior semelhança com sequências relacionadas encontradas em outras espécies.

### A PROTEÍNA SRC

A proteína c-SRC é uma tirosina-quinase não receptora, produto de expressão do gene *c-SRC*. Apresenta duas isoformas, como produtos de *splicing* alternativo (Tabela 1). A isoforma 1 tem massa de 59.835 Da, 536 resíduos de aminoácidos e o comprimento

total da sua sequência codificante corresponde a 1.608 nucleotídeos. A Isoforma 2 tem massa de 60.589 Da, 542 resíduos de aminoácidos e o comprimento total da sequência codificante corresponde a 1.626 nucleotídeos. A isoforma 1 foi escolhida como a **sequência canônica** (Figura 2).

**Tabela 1.**  
Relação dos éxons de *SRC*, com sua variação de tamanho e participação na codificação das duas isoformas da proteína *SRC*.

Éxons	Comprimento (nº de nucleotídeos)	Codificando para Isoforma 1	Codificando para Isoforma 2
1	183	X	
2	254	X	X
3	100	X	X
4	18		X
5	99	X	X
6	104	X	X
7	150	X	X
8	156	X	X
9	180	X	X
10	77	X	X
11	154	X	X
12	132	X	X
13	2262	X	
14	2880		X

“X” indica participação.

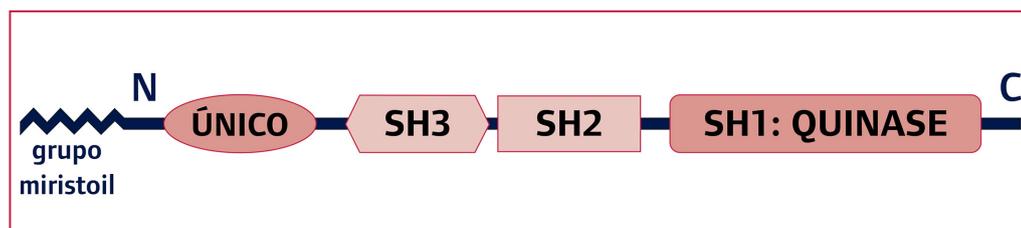
10	20	30	40	50	<b>Abreviações</b>	<b>Aminoácidos</b>
MGSNKS	ASQRRRSLEP	AENVHGAGGG	AFPASQTPSK	PASADGHRGP		
60	70	80	90	100	<b>C</b>	Cys Cisteína
SAAFAPAAAE	PKLFGGFNSS	DTVTSPQRAG	PLAGGVVTFV	ALYDYESRTE	<b>D</b>	Asp Ác. Aspártico
110	120	130	140	150	<b>E</b>	Glu Ác. Glutâmico
TDLSEFKGER	LQIVNNTEGD	WWLAHSLSTG	QTGYIPSNYV	APSDSIQAE	<b>F</b>	Phe Fenilalanina
160	170	180	190	200	<b>G</b>	Gly Glicina
WYFGKITRRE	SERLLLNAEN	PRGTFLVRES	ETTRGAYCLS	VSDFDNAKGL	<b>H</b>	His Histidina
210	220	230	240	250	<b>I</b>	Ile Isoleucina
NVKHYKIRKL	DSGGFYITSR	TQFNLSLQQLV	AYYSKHADGL	CHRLTTVCPT	<b>K</b>	Lys Lisina
260	270	280	290	300	<b>L</b>	Leu Leucina
SKPQTQGLAK	DAWEIPRESL	RLEVKLGQGC	FGEVVMGTWN	GTRVAIKTL	<b>M</b>	Met Metionina
310	320	330	340	350	<b>N</b>	Asn Asparagina
KPGTMSPEAF	LQEAQVMKKL	RHEKLVQLYA	VVSEEPYIV	TEYMSKGSLL	<b>P</b>	Pro Prolina
360	370	380	390	400	<b>Q</b>	Gln Glutamina
DFLKGEGTKY	LRLPQLVDMA	AQIASGMAYV	ERMNVVHRDL	RAANILVGEN	<b>R</b>	Arg Arginina
410	420	430	440	450	<b>S</b>	Ser Serina
LVCKVADFGL	ARLIEDNEYT	ARQGAKFPIK	WTAPEAALYG	RFTIKSDVWS	<b>T</b>	Thr Treonina
460	470	480	490	500	<b>V</b>	Val Valina
FGILLTELTT	KGRVPYPMGV	NREVLQOVER	GYRMPCPEEC	PESLHDLMCQ	<b>W</b>	Trp Tryptofano
510	520	530			<b>Y</b>	Tyr Tirosina
CWRKEPEERP	TFEYLQAFLE	DYFTSTEPQY	QPGENL			

**Figura 2.** Aminoácidos da proteína SRC. À esquerda, a sequência canônica de aminoácidos da proteína SRC humana. À direita, a relação dos aminoácidos com suas abreviações.

A proteína c-SRC é o membro protótipo de uma família de nove tirosina-quinases não receptoras (SRC, FYN, YES, LYN, LCK, HCK, BLK, FGR, FRX) que partilham a mesma estrutura de quatro domínios: o domínio catalítico (domínio quinase – SH1), que contém o sítio ativo da tirosina-quinase;

dois domínios que permitem a interação com outras proteínas (SH2 e SH3); o domínio único, que varia entre os membros da família. A extremidade aminoterminal (N-terminal) inclui um sítio de **miristilação**, com importância no ancoramento da proteína à porção citosol da membrana.

**Miristilação** é uma modificação pós-traducional de proteínas que possibilita à proteína modificada interagir com um receptor de membrana ou com a própria bicamada lipídica. Essa modificação consiste na transferência de uma cadeia lipídica derivada do ácido mirístico (C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>), mediada pela proteína N-miristoil transferase, para o aminoácido glicina no N-terminal da proteína.



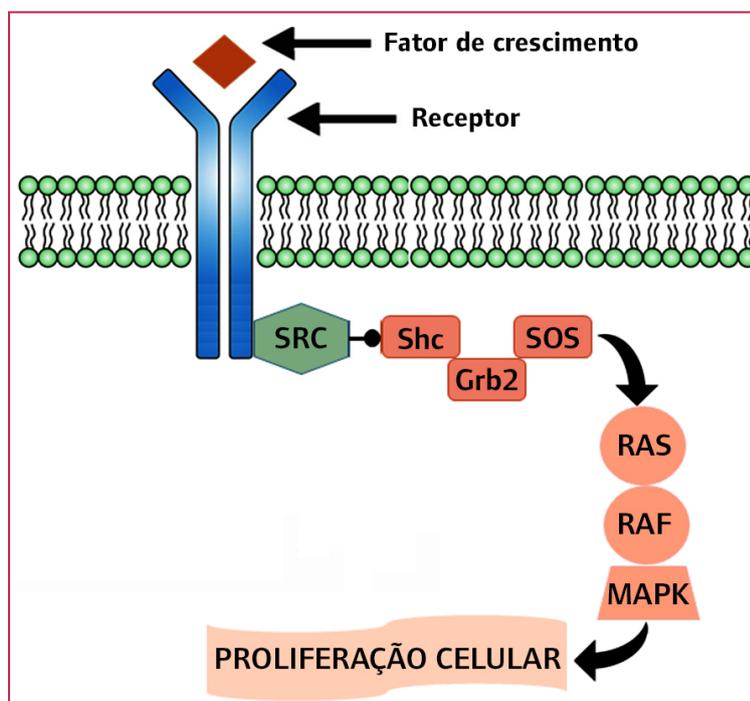
**Figura 3.** Estrutura de domínios da família SRC de proteína-quinases.

**Fatores de crescimento**

são moléculas geralmente proteicas, relacionadas ao controle do ciclo celular pela ligação a receptores de superfície celular específicos apresentados pela célula. Além de estimular a proliferação celular (crescimento), influenciam na migração e diferenciação de células.

As pesquisas bioquímicas do gene *SRC* e da proteína que ele codifica, bem como das outras proteína-quinases da família *SRC*, indicaram como a sinalização celular utiliza fatores de crescimento (Figura 4). Dessa forma, foram

identificados receptores utilizados pelas células para **fatores de crescimento** e também as vias de sinalização intracelular relacionadas ao controle da proliferação tanto de células normais quanto de células malignas.

**Figura 4.**

Representação simplificada dos componentes de uma cascata de sinalização para proliferação celular incluindo a participação de SRC. Além de SRC, outras proteína-quinases (Shc, Grb2, SOS, RAS, RAF e MAPK) participam dessa via de sinalização cujo resultado final é a proliferação celular.

Uma proteína quinase caracteriza-se pela capacidade de fosforilar múltiplos substratos. No caso particular de SRC, já são mais de 50 diferentes substratos proteicos descritos. A proteína SRC apresenta, então, uma ação **pleiotrópica**, uma vez que cada substrato por ela fosforilado pode ser alterado e continuar alterando as atividades de seu próprio grupo de alvos, abaixo na cascata de sinalização.

**RELAÇÃO DE SRC COM O CÂNCER**

Considera-se que alterações genéticas nos sistemas reguladores do ciclo celular são o mecanismo primário da carcinogênese (desenvolvimento do câncer). Neste sentido, duas classes de genes e suas mutações são fundamentais na origem de um tumor: os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais. Os proto-oncogenes são genes que

normalmente ajudam as células a proliferar. Entretanto, quando um proto-oncogene sofre mutação, sua expressão torna-se ampliada (passa a ser um oncogene), aumentando os níveis de seu produto (oncoproteína) e, dessa forma, contribui para a proliferação celular exagerada. Os genes supressores tumorais são reguladores negativos do ciclo celular, atuando como “freios” para mantê-lo no ritmo normal. Caso ocorram mutações com perda de função nesses genes supressores tumorais, a proliferação tende a acelerar.

A tirosina-quinase SRC atua como regulador positivo do ciclo celular. Como já mencionado, SRC aparece como componente de uma cascata de sinalização para proliferação celular. A proteína SRC, por sinal, foi a primeira oncoproteína a ser estudada, permitindo aos pesquisadores uma visão inicial sobre os mecanismos que levam células normais a transformar-se em células cancerígenas.

**Pleiotrópica** é a condição genética em que um único gene interfere sobre as manifestações de várias características.

O proto-oncogene *c-SRC* tem sido fortemente implicado no desenvolvimento, progressão e metástase de diversos tumores humanos, incluindo o câncer gástrico, o colorretal, o de cérebro, mama e pâncreas, podendo desempenhar um papel central nos processos que resultam nesses cânceres. Acumulam-se registros de que tanto os níveis de proteínas SRC quanto, em maior grau, a atividade dessas quinases, estão frequentemente aumentados em tecidos tumorais humanos quando comparados aos tecidos normais adjacentes. Além disso, parece haver uma correlação positiva entre os níveis de proteínas SRC e os estágios da doença.

Sabe-se hoje que quinases SRC podem ser ativadas por certas unidades de **proteína G**. A habilidade dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*) em ativar rotas mitogênicas sugere que a desregulação da sinalização por esses receptores, ou das próprias proteínas G associadas, também pode contribuir para a transformação celular e carcinogênese.

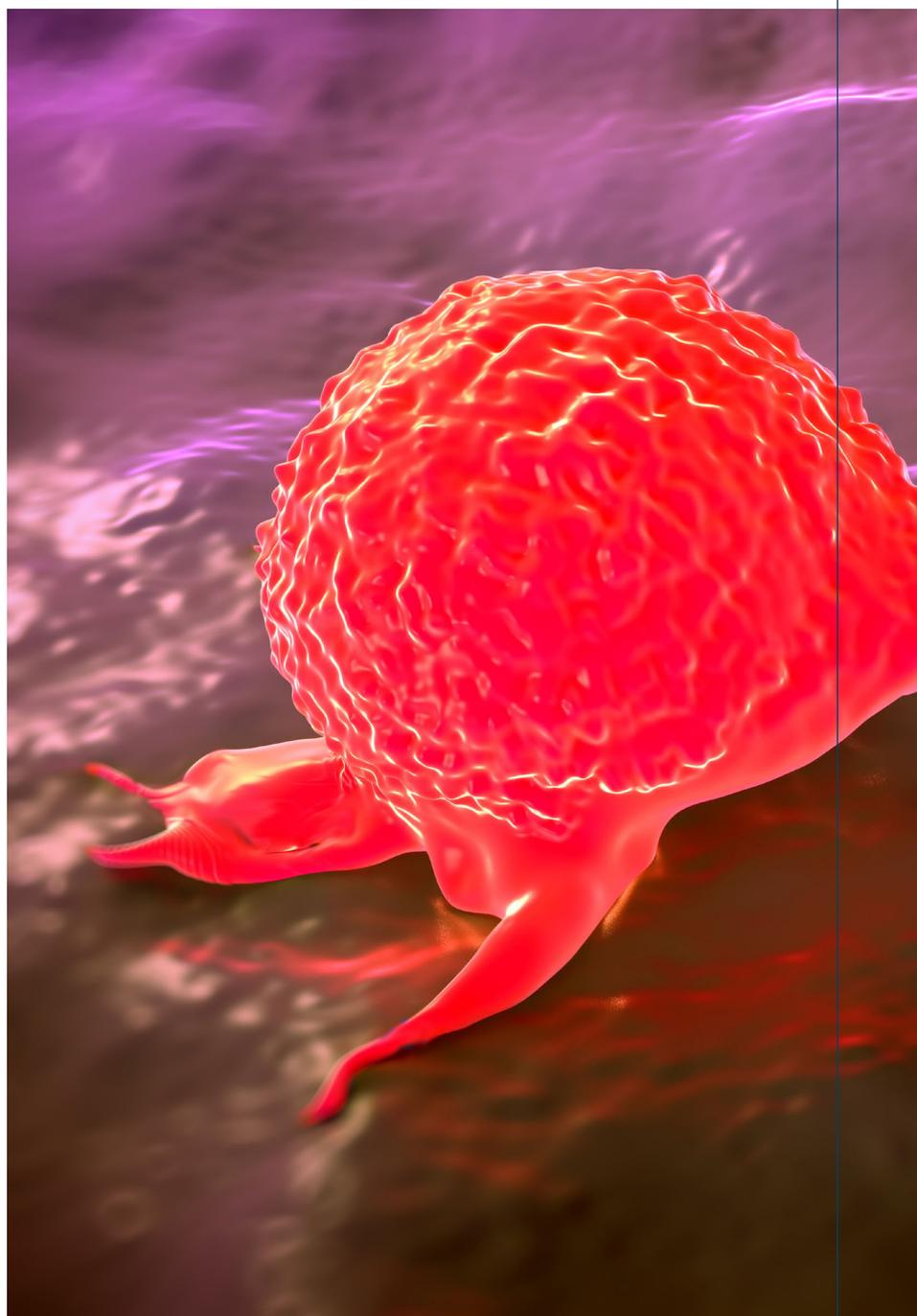
À medida que mecanismos envolvidos nas mutações de genes que codificam para PTKs foram sendo elucidados, passou a ser possível o tratamento de várias patologias em que ocorrem tais mutações focado na terapêutica-direcionada com inibidores das PTKs. Uma vantagem desse tipo de terapêutica farmacológica em relação à quimioterapia está na sua especificidade para o alvo, contribuindo para uma diminuição da toxicidade.

O Imatinibe (Glivec®) foi o primeiro inibidor de PTKs aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos, em 2001, tendo apresentado um grande impacto, por exemplo, no tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC). Em mais de 90% dos pacientes com LMC, o gene híbrido *BCR-ABL* produz a proteína BCR-ABL com atividade de tirosina-quinase elevada, responsável pela patogênese da doença. O Imatinibe é capaz de inibir a atividade tirosina-quinase de algumas proteínas, incluindo a BCR-ABL.

Ao longo de mais de uma década a classe farmacológica dos inibidores de PTKs experi-

mentou uma franca expansão, de modo que vários novos fármacos foram aprovados e outros encontram-se em fases avançadas de testes. O Dasatinibe (Sprycel®), por exemplo, tem ação inibidora contra BCR-ABL e quinases da família SRC, e foi aprovado para o tratamento de adultos com LMC com intolerância ou resistência ao Imatinibe; o Lapatinibe (Tykerb®), aprovado para pacientes com câncer de mama avançado ou metastático; o Apatinibe, atualmente

**Proteína G** é uma classe de proteínas citosólicas com função importante na transdução de sinais celulares. O uso da letra G na sua identificação relaciona-se ao fato de funcionarem como chaves moleculares, alternando entre um estado inativo de ligação com uma guanosina difosfato (GDP) e outro ativo com uma guanosina trifosfato (GTP).



**Angiogênese** é a formação de novos vasos sanguíneos. Esses vasos recém-formados tanto podem penetrar no tumor quanto podem ser periféricos. Sem a ocorrência de angiogênese, o tumor não poderia desenvolver-se plenamente e muito menos proliferar em outros órgãos.

em fase III de pesquisa clínica (última fase antes da comercialização), para tratamento de adenocarcinoma gástrico metastático. O principal mecanismo de ação desses medicamentos tem como base o bloqueio do local de ligação do ATP das PTKs. Com o bloqueio do local, as PTKs não conseguem transferir fosfatos para os resíduos tirosina. Por sua vez não ocorre transdução do sinal e, conseqüentemente, não ocorre proliferação celular, nem **angiogênese**.

## PARA SABER MAIS

HARTMANN, J. T.; HAAP, M.; KOPP, H-G.; LIPP, H-P. Tyrosine kinase inhibitors - a review on pharmacology, metabolism and side effects. *Current Drug Metabolism*, v. 10, p. 470-481, 2009.

SILVA, B. V.; HORTA, B. A. C.; ALENCAS-TRO, R. B.; PINTO, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Química Nova*, v.32, n. 2, p. 453-462, 2009.

WEINBERG, R. A. *A biologia do câncer*. Porto Alegre: Artmed, 2008.

