

APOPTOSE: BENEFÍCIOS E PREJUÍZOS DA MORTE CELULAR PROGRAMADA

Roseane Valentim Pavezi Teston* ; Maria Raquel Marçal Natali**

TESTON, R.V.P.; NATALI, M.R.M. Apoptose: benefícios e prejuízos da morte celular programada. *Arq. Apadec*, 7(1): 24-28, 2003.

RESUMO. Em muitos tecidos em replicação e no processo de desenvolvimento embrionário, o exame das populações celulares é obtido através do controle da taxa de mortalidade celular, fenômeno desencadeado geneticamente. Este processo conhecido como apoptose contrasta com a morte celular que resulta de muitos processos patológicos ou de estímulos deletérios (necrose). Ocorre na modelação de órgãos, na manutenção da homeostasia do sistema imunológico, em vários processos normais como a reparação da molécula de DNA e, também, em várias doenças como o câncer, AIDS, entre outras. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura, onde foram enfocados aspectos conceituais da apoptose, sua caracterização morfológica e ocorrência, considerando que atualmente este é um dos processos mais vigorosamente investigados na biologia.

PALAVRAS-CHAVE: apoptose; morte celular; necrose.

INTRODUÇÃO

O termo APOPTOSE é derivado do grego e se refere a "queda de folhas no outono", tendo o sentido de uma morte benéfica. No caso, a planta economiza energia em tempos ruins onde há pouca disponibilidade de luz para a fotossíntese, pois as folhas que caem deixam de consumir energia e, além disto, antes de caírem transferem suas reservas para a planta, sendo assim a morte celular programada fisiológica e apropriadamente, implicando também em renovação, pois, tão logo haja condições, novas folhas surgirão.

Esta comparação busca mostrar que a apoptose é um processo de morte celular que, embora pareça contraditório, é um importante mecanismo de sobrevivência, pois este fenômeno está intimamente ligado ao processo de desenvolvimento embrionário e na fase adulta de um organismo, sendo assim um tipo de morte celular desejável e necessária (VASCONCELOS, 2000).

Estudos sobre apoptose são relatados desde 1858 e até hoje seu mecanismo não está totalmente desvendado, sendo um dos desafios dos pesquisadores da atualidade, que tentam encontrar cura para doenças que estão relacionadas com apoptose, através dos genes que bloqueiam ou ativam este processo.

Várias células normais morrem durante a vida de um animal ou vegetal pela ativação da apoptose. Sendo este processo caracterizado por uma morte celular limpa, rápida, em que não ocorre reação inflamatória, com o uso de energia e que depende de uma família de enzimas proteolíticas.

A apoptose é uma característica regular no desenvolvimento dos animais e plantas, sendo este processo tão importante quanto a mitose, pois garante que as células sobrevivam apenas onde e quando são necessárias. É detectada durante a embriogênese, em processos de metamorfose e em processos de regulação do desenvolvimento e da renovação celular. Mais especificamente, a apoptose pode ser observada na regressão da cauda do girino, regressão do útero no período pós-parto, regressão da mama após a lactação, modelagem dos dedos, etc. (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999; VASCONCELOS, 2000; MELLO et al., 2001).

Para um organismo multicelular, a morte celular programada é um evento normal e geralmente benigno. A proliferação e a sobrevivência inapropriada de células representam um perigo real (ALBERTS et al., 1999).

DESENVOLVIMENTO

A observação de que, no período de metamorfose dos insetos, ocorriam mortes programadas de células, aparentemente predeterminadas, levaram Kerr et al., em 1972, a proposição do termo *apoptose* para descrever este fenômeno, conceituando-a como um processo onde células fisiologicamente indesejáveis não necrosam, elas apoptosam, pois as diferenças morfológicas desses dois tipos de mortes celulares são bem visíveis (TSANACLIS, 2000).

Morte celular? Morte celular programada? Necrose?

* Especialista em Biologia - Av. São Paulo, 740 Cianorte - PR CEP 87200-000 Fone: 0xx 44 631 28 05;

** Docente do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá

Apoptose?

Segundo MELLO et al. (2001), a morte celular pode ser classificada em três tipos: morte celular programada (programa genético de morte celular), apoptose (processo de morte celular programada que pode ser induzido ou antecipado por ação de estímulos fisiológicos) e necrose ou morte celular accidental. Somente em mamíferos a morte celular programada e apoptose são consideradas sinônimos (SILVA, 2001).

A necrose difere da apoptose por representar um processo passivo onde a morte celular se processa por um dano direto, de todas as estruturas celulares (DUBIN & STOPPANI, 2000). É um fenômeno degenerativo, irreversível causado por uma agressão intensa, onde ocorre uma degradação progressiva das estruturas celulares sempre que existam agressões ambientais severas (VASCONCELOS, 2000).

SOINI et al. (1998) definem apoptose como sendo um processo celular complexo, que desencadeia autodestruição individual, não prejudica células vizinhas e sem reação inflamatória. É um processo rápido que não deixa vestígios, tendo grande importância para as funções normais do organismo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). Já a necrose ocorre após lesão tissular extensa, devido a agentes químicos e físicos que promovem um rápido colapso da homeostase interna, promovendo inflamação (TSANACLIS, 2000).

A necrose, em contraste com apoptose, é pouco regulada. A diferença mais óbvia é que a necrose conduz a uma destruição de um grande grupo de células na mesma área. Já a apoptose pode ocorrer em uma única célula. Na necrose o citoplasma incha, rompendo a membrana, liberando enzimas lisossômicas, ocasionando inflamação. Já na apoptose a membrana externa permanece intacta e o processo é contido, sem qualquer dano à célula vizinha (SOINI et al., 1998).

É interessante salientar que o mesmo agente etiológico pode provocar tanto necrose quanto apoptose, sendo que a severidade da agressão parece ser o fator determinante do tipo de morte celular (VASCONCELOS, 2000).

Recentemente o termo necrose sofreu uma adequação, pois, segundo Manjo & Joris apud TSANACLIS (2000), necrose não indica o tipo de morte celular que acometeu a célula. Este termo refere-se às modificações secundárias que ocorrem após a morte celular por qualquer mecanismo, inclusive por apoptose, denominando de morte celular accidental para se referir a morte celular devido a alterações do fluxo sanguíneo e

de oxigenação (isquemia), lesões químicas, queimaduras etc.

Para SOINI et al. (1998), a duração da apoptose depende do estímulo, podendo ocorrer entre 12 e 14 horas. No entanto, ressalta que só há mudanças morfológicas visíveis durante as 2 a 3 últimas horas, período que é associado à fase de degradação da apoptose.

Ainda em relação a duração da apoptose COSENTINO (1997) afirma que a velocidade da apoptose varia de acordo com a espécie, tipo de tecido, variando de alguns segundos para os linfócitos e alguns minutos ou horas para os neurônios.

Segundo MELLO et al. (2001) o processo de apoptose envolve uma fase de controle e uma de execução. Essa fase envolve a ativação de proteínas da família das cisteinilproteases, também chamadas caspases ou ICE, nos mamíferos.

A regulação da apoptose inicia-se quando um grupo de moléculas sinalizadoras extrínsecas às células ligam-se aos receptores celulares específicos, desencadeando uma cascata sinalizadora intracelular que culminará em uma resposta na expressão gênica da célula que está sendo estimulada pelo sinal. O alvo final são os genes contidos na molécula de DNA. Porém os receptores dos sinais e a maquinaria intracelular são, por sua vez, produtos da expressão de determinados genes, os quais, se ocorrer mutação, resultarão em produtos alterados que não conseguirão desempenhar o papel correto na via sinalizadora intracelular.

Na fase inicial do processo de apoptose há síntese das enzimas necessárias para provocar a dissolução celular, embora nesta fase não ocorram alterações estruturais. Esta fase é denominada priming (iniciação). Ao longo do desenvolvimento, muitas células são iniciadas na apoptose e sobrevivem apenas se poupadas por um fator trófico específico. Em seguida, as células apoptóticas perdem as especializações e junções de superfície, diminuindo de tamanho. As enzimas endonucleases clivam os cromossomos em fragmentos nucleossômicos.

Três ou mais DNAses (DNase I, DNase II e NUC-18) podem causar quebras internucleossômicas no DNA da célula apoptótica. Ainda não está claro se a degradação do DNA é a causa da morte celular ou se ela apenas ocorre após o ponto irreversível deste processo, que segundo SILVA (2001), provavelmente esta última hipótese seria a mais correta, já que a degradação do DNA não é obrigatória para todas as formas

de morte celular programada.

O cálcio e as enzimas topoisomerasas que afrouxam a torção da fita de DNA estão envolvidos na ativação de endonucleases, pois ambos controlam a estrutura da cromatina de uma maneira que a endonuclease possa agir (Evans apud SILVA, 2001).

A desintegração da célula em pequenos fragmentos conhecidos como corpos apoptóticos (ou vesículas apoptóticas) é acompanhada da fragmentação nuclear, em um processo que ocorre em poucos minutos. Cada fragmento contém mitocôndrias viáveis e organelas intactas. Os fragmentos apoptóticos são reconhecidos e ingeridos pelas células adjacentes por fagocitose. Alguns fragmentos são destruídos extracelularmente enquanto outros são ingeridos por células fagocíticas locais (ALBERTS et al., 1999; MELLO et al., 2001; STEVENS & LOWE, 2001).

Estudos recentes evidenciam que na apoptose as mitocôndrias sofrem alterações precoces e essenciais para a concretização do processo apoptótico. Esses mecanismos operam antes mesmo do aparecimento das alterações estruturais típicas da apoptose (TSANACLIS, 2000). Devido a importância destes fatos, DUBIN & STOPPANI (2000) nomeiam as fases da apoptose como fase pré-mitocondrial, ou de indução, fase de dano mitocondrial efetivo e fase pós-mitocondrial ou degenerativa.

Na primeira fase ocorreria a ativação das caspases por estímulos extracelulares (agentes mutagênicos, drogas citotóxicas, radicais ionizantes etc.) que atuam sobre as membranas mitocondriais, em particular sobre o poro mitocondrial de permeabilidade transitória (PMT).

Na fase efetora, ocorrem mudanças significativas na função das membranas mitocondriais, com a abertura do poro mitocondrial, facilitando a saída de íons de cálcio da matriz mitocondrial ao citosol, ocasionando um colapso do potencial de membrana e um aumento na produção de radicais livres de oxigênio, uma diminuição de GSH, de ATP e de ADP na matriz mitocondrial. Como resultado a esses efeitos, produz-se um aumento do volume mitocondrial que culmina no rompimento da mitocôndria. Durante esta fase as células são programadas de maneira irreversível para a morte.

Na terceira fase, a pós-mitocondrial, ocorre a saída dos fatores apoptogênicos mitocondriais, liberados ao citosol, aonde somam-se aos gerados, neste mesmo citosol, promovendo a des-

truição das proteínas, do DNA, do RNA e das membranas celulares, consumando assim a morte celular. Durante esta fase é que aparecem as mudanças morfológicas e bioquímicas da apoptose. Em todas as fases as caspases são ativadas (DUBIN & STOPPANI, 2000).

MELLO et al. (2001) descrevem quatro tipos de procedimentos técnicos para identificar células em apoptose: reação de Feugen, que possibilita a quantificação de DNA e exibe a morfologia de compactações e descompactações cromatínicas; concentração crítica de eletrólitos, que permite a identificação dos nucléolos; identificação imunocitoquímica, que marca núcleos e/ou vesículas nos quais tenha ocorrido a fragmentação do DNA internucleossomal e a identificação em nível bioquímico, que submete o DNA nuclear, extraído de células em apoptose, a uma eletroforese em gel de agarose.

VASCONCELOS (2000) ressalta um fato importante, também citado por outros autores, a respeito da fragmentação internucleossômica do DNA, sem nenhuma especificidade de sequência, porém mais intensamente na cromatina em configuração aberta, consequência da atividade de uma endonuclease. Essa fragmentação característica do genoma pode ser identificada *in situ* pela técnica TUNEL (Terminal deoxinucleotil transferase Uracil Nick End Labeling). Pode ser facilmente visualizada laboratorialmente pela eletroforese do DNA em gel de agarose, produzindo o clássico "padrão em escada", com formação de bandas contendo múltiplos de 180-200 pb.

A apoptose ocorre em células que estão entre outras que funcionam normalmente, pois necessita de vias sinalizadoras, de sinais atuando sobre receptores superficiais, para que a célula entre em apoptose. Os sinais podem ser positivos, quando presentes, ou negativos, quando ausentes (TSANACLIS, 2000).

A indução da apoptose pode se dar por vários estímulos, como alguns agentes quimioterápicos, doenças imunossupressoras, toxinas, raios ultravioleta e radiações g, drogas, choque térmico, calor, metais pesados, álcoois, hipóxia, jejum, inibidores metabólicos, desequilíbrio osmótico, alta concentração de cálcio e óxido de nitrogênio (SOINI et al., 1998; DUBIN & STOPPANI, 2000; VASCONCELOS, 2000; MELLO et al., 2001).

A apoptose ocorre também na diferenciação e morfogênese de órgãos e células normais, presente no desenvolvimento embrionário-fetal, no desenvolvimento ontogenético (onde muitas células morrem em benefício do próprio desenvol-

vimento do organismo), na organogênese, na renovação de células epiteliais e hematopoiéticas, na involução cíclica dos órgãos reprodutivos da mulher, na regressão dos ductos de Müller no homem e de Wolff na mulher, na atrofia induzida pela remoção de fatores de crescimento ou hormônios, na involução de alguns órgãos, na regressão da cauda do girino.

Notadamente é um tipo de morte celular programada, desejável e necessária que participa na formação dos órgãos e que persiste em alguns sistemas adultos como na pele, no sistema imunológico, em tecidos que sofrem renovação contínua (intestino, estômago, esôfago, etc), na redução do córtex adrenal do recém-nascido, na regressão das mamas pós-desmame, na regressão do útero pós-parto, na atrofia da próstata pós-castração (TSANACLIS, 2000; VASCONCELOS, 2000; Tapia apud MIRANDA-NETO et al., 2002).

Além dos exemplos citados acima, a apoptose também ocorre na eliminação de neurônios que não estabelecem conexões periféricas, sendo que esta eliminação pode chegar a 50% das células. Esta morte em massa das células nervosas ocorre no desenvolvimento do sistema nervoso, e é essencial para a correta maturação e funcionamento deste sistema. Nos neurônios é possível reduzir a intensidade da apoptose ou compensar com novas sinapses entre os neurônios remanescentes, dependendo entre outros fatores dos estímulos que levam a sua utilização (COSENTINO, 1997; ALBERTS et al., 1999; TSANACLIS, 2000; MIRANDA-NETO et al., 2002).

Um outro tipo de ocorrência que destacamos de apoptose é no timo de mamíferos, na eliminação dos clones de linfócitos T autoreativos, antes de alcançarem a corrente sangüínea, sendo que essa eliminação contribui de maneira essencial para a manutenção da homeostase imunitária, pois estas células, linfócitos T, atacam antígenos do próprio corpo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999; DUBIN & STOPPANI, 2000; TSANACLIS, 2000).

Apoptose também é um fenômeno natural na reparação do DNA. Quando ocorre um erro na molécula de DNA a célula tenta repará-la, isto é um processo natural que serve para corrigir defeitos da divisão celular e evitar o surgimento de doenças genéticas. Primeiro a célula tenta corrigir o erro através de enzimas especializadas. Se isso não for possível, esta célula ativa o processo de morte programada, ou seja a apoptose (GALLERA, 2001).

A estimativa é que cerca de 10 11 células, do total de 10 17 células que compõem o organismo humano, são eliminadas por dia através da morte celular programada (TSANACLIS, 2000).

As doenças relacionadas com a morte celular programada podem ser divididas em doenças associadas à inibição da apoptose, e doenças associadas à aceleração da apoptose.

O câncer é o produto de mutações que liberam as células do controle normal da proliferação e sobrevivência celular. Essas mutações afetam proteínas que regulam a sobrevivência e a morte celular, permitindo que a célula continue viva na ausência de sinais de sobrevivência apropriados (ALBERTS et al., 1999).

Vários genes reguladores da apoptose estão sendo constatados em cânceres, tais como p53, Rb, rás, myc e outros (SOINI et al., 1998). Segundo CAVALCANTI (1996), o gene p53 é o mais responsabilizado por casos de câncer, pois este controla a população de células precursoras indiferenciadas quando estas passam longos períodos sem estímulos para proliferação e diferenciação, através da indução da apoptose.

A expansão da leucemia mielóide crônica pode ocorrer pela sobrevivência exacerbada das células. Possivelmente esta sobrevivência ocorre em virtude da expressão da proteína tirosina quinase ABL que pode estar inibindo a apoptose (TSANACLIS, 2000).

Doenças como glomerulonefrites e viroses, como herpes, lúpus erimatoso sistêmico e adenovírus também são exemplos de doenças causadas pela inibição da apoptose (COSENTINO, 1997; DUBIN & STOPPANI, 2000).

A AIDS está entre as doenças associadas a aceleração da apoptose, relacionada com a indução da apoptose em células TCD4+ infectadas e não infectadas. Possivelmente os linfócitos CD4+ não infectados são mais sensíveis a apoptose e os que carregam o vírus são menos propensos ao suicídio celular. Isso faz com que as células com o vírus tenham uma vantagem pois implica na morte das células que poderiam gerar uma resposta imune, enfraquecendo assim as defesas do corpo (King et al. apud TSANACLIS, 2000).

A doença de Parkinson, doença de Alzheimer, anemia aplástica, cardiopatias, doenças do fígado relacionadas com toxinas e álcool, infertilidade masculina, são também associadas a aceleração do mecanismo de apoptose (DUBIN & STOPPANI, 2000).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo da apoptose ainda não está bem esclarecido. É um fenômeno que está sendo muito estudado no mundo todo, devido sua relação com vários tipos de doenças que acometem toda a população mundial, principalmente a AIDS e o câncer. Várias são as pesquisas que tentam, através da apoptose, conseguir a cura, ou, pelo menos, um tratamento mais eficaz para estas e outras doenças.

A apoptose também é muito importante para o estudo do desenvolvimento embrionário e no estudo evolutivo e filogenético, devido a similaridade dos genes envolvidos na apoptose entre os animais.

Pesquisas recentes estudam a terapia gênica no tratamento de Alzheimer, onde se tenta frear a morte de neurônios que caracteriza esta doença. E, de maneira contrária, uma outra pesquisa tenta fazer com que células cancerosas entrem em apoptose (SILVA, 2001).

O desafio de conseguir desvendar todo o mecanismo que envolve a apoptose através do conhecimento molecular aliado à medicina permitirá o reconhecimento de que a apoptose poderia ser considerada como um fenômeno de suicídio para a cura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Fundamentos da biologia celular : uma introdução à biologia molecular da célula*. Porto Alegre: Artmed, 1999. p.599-605.
- CAVALCANTI, R. A. A genética do câncer: biologia, mutações, tumorigênese. *Rev. Clín. Cir. Paraíba*, 1(1), 1996. Disponível em : <http://www.funape.ufpb.br/~racanti/genetica.htm>. Acesso em: 08/07/2001.
- COSENTINO, C. Apoptosis y sistema nervioso. *Ana. Facult.e Med. Univers. Nac. San Marc.*, 58(2): 136-9, 1997.
- COSTA, R. A. C. Citocinas, sinalização e morte celular. Disponível em: <http://www.igce.unesp.br/ib/biologicas/cito.html>. Acesso em: 13/06/2001.
- DUBIN, M.; STOPPANI, A.O.M. Muerte celular programada y apoptosis – funcion de las mitocondrias. *Rev. Med.*, 60(3): 375-386, 2000.
- GALERA, B.B. O que é reparo do DNA? E autodestruição das células? *Galileu*. jul(108), 2000. Disponível em: http://galileu.globo.com/edic/108/sem_duvida1.htm. Acesso em: 08/07/2001.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.48-49.
- MELLO, M.L.S.; VIDAL, B.C.; MARIA, S.S. Morte celular In: CARVALHO, H.F.; RECCOPIMENTEL, S. M. *A célula*. São Paulo: Manole, 2001. p.275-280.
- MIRANDA-NETO, M.H.; MOLINARI, S.L.; SANT'ANA, D.M.G. Relações entre estimulação, aprendizagem e plasticidade do sistema nervoso. *Arq. Apadec*, 6(1):9-14, 2002.
- SILVA, E.C.M. A base genética e o controle molecular da morte celular programada. Disponível em: <http://www.igce.unesp.br/ib/biologicas/base.html>. Acesso em: 13/06/2001.
- SOINI, Y.; PÄÄKKÖ, P.; LEHTO, V-P. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *Am J Pathol.*, 153(4):1041-1053, 1998.
- STEVENS, A.; LOWE, J. *Histologia humana*. São Paulo: Manole, 2001. p.30-31.
- TSANACLIS, A.M.C. Curso de patologia geral. Apoptose. 2000. Disponível em : <http://www.usp.br/medicina/departamento/patologia/anatpatol/apostila.htm>. Acesso em: 29/06/2001.
- VASCONCELOS, A.C. Patologia geral em hipertexto: Apoptose. Belo Horizonte, 2000. Disponível em: <http://www.icb.ufmg.br/pat/Apoptose.htm>. Acesso em: 13/06/2001.