

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE MED. VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ
DEP. DE RADIOLOGIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

CONTROLE DO CICLO CELULAR

(SEMINÁRIO DE REPRODUÇÃO I)

CAMILO BULLA

BOTUCATU
ABRIL DE 2003

CAMILO BULLA

CONTROLE DO CICLO CELULAR

MONOGRAFIA APRESENTADA À DISCIPLINA
SEMINÁRIOS DE REPRODUÇÃO I, DO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA/
REPRODUÇÃO ANIMAL, DA FACULDADE DE MEDICINA
VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNESP.

BOTUCATU,
ABRIL DE 2003

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	4
REVISÃO DE LITERATURA	5
REFERÊNCIAS	17

Introdução

A divisão celular é um evento necessário para a manutenção da vida. Para que as células continuem se multiplicando e criando formas celulares viáveis é necessário que esta multiplicação seja controlada. Por isso, fica bastante óbvia a presença de um mecanismo de controle de qualidade interno, que assegure que a divisão celular dê origem a duas células.

O termo ciclo celular é utilizado para descrever uma série de eventos ordenados que leva a duplicação de todos os componentes celulares e a partição fiel desses em duas partes (PERRY & LEVINE, 1993) filhas iguais. Para as células se dividirem precisam aumentar de tamanho, para que as células filhas não fiquem cada vez menores, o que normalmente ocorre na fase G1 do ciclo celular. Um outro passo crucial para a divisão celular é a duplicação do material genético, nessa fase a célula tem que ter todo o seu DNA duplicado, sem exceções e sem erros (ZHOU & ELLEDGE, 2000). Precisa também ter controle para que esse material só seja duplicado e não triplicado, ou quadruplicado, evento que ocorre na fase S. Na fase G2 a célula se prepara para a divisão e pára com o intuito de checar se está pronta para se dividir. A divisão propriamente dita ocorre na fase M, que também é chamada de mitose. Nessa fase, as seqüências duplicadas serão separadas e enviadas para cada uma das células filhas e a célula vai se dividir, seguindo, cada um dos produtos, o ciclo celular novamente.

Grande parte dos estudos dos mecanismos de controle do ciclo celular baseou-se nas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Schizosaccharomyces*

pombe, pela facilidade de se isolar rapidamente mutações que impedem processos biológicos específicos, como os eventos do ciclo celular. Outra característica importante foi a facilidade de se identificar a fase do ciclo em que se encontram, de forma que as mutações que interferiam no ciclo celular pudessem ser prontamente percebidas (NURSE, 1990; HARTWELL *et al*, 1974).

Revisão da Literatura

Algumas etapas do ciclo celular são cruciais para que o ciclo continue. Por isso, essas etapas são revisadas, e em caso de erros, o ciclo celular pode ser atrasado ou até desviado. Esses pontos de revisão referem-se principalmente a dois eventos: a duplicação do DNA e a segregação das cromátides. Nessas situações, as células podem sofrer os estímulos externos de forma que o ciclo pode ser acelerado ou até parado (ALBERTS *et al*, 2002).

As revisões funcionam provavelmente com estímulos negativos. Um exemplo fácil é a separação das cromátides: se a cada cinetocoro que se juntasse ao fuso a célula emitisse um sinal positivo para que o ciclo continuasse, seria difícil que a não-junção de apenas um pudesse impedir que o ciclo continuasse, já que a fração do estímulo que estaria faltando seria muito pequena. Por isso, acredita-se que a cada cinetocoro ligado ao fuso uma fração de estímulo negativo seja retirada, e, ao final, a célula fica livre para continuar a segregação das cromátides. Infelizmente esses pontos de revisão não são necessários para que a célula continue se dividindo (PERRY & LEVINE, 1993), assim, se de alguma forma esses pontos não funcionarem devidamente o ciclo celular continuará. Essa é provavelmente a causa de grande parte dos cânceres: se o ciclo não pára, as mutações se acumulam e as chances de se criar uma célula cancerígena aumentam (ALBERTS *et al*, 2002).

O controle do ciclo celular é realizado principalmente por proteínas que têm a capacidade de fosfatar outras proteínas, inibindo-as. Essas quinases são inativas quando formadas e necessitam de outro grupo de proteínas para que sejam ativadas. Apesar da concentração plasmática dessas quinases não variar durante o ciclo celular, a função varia de uma forma cíclica, propriedade conferida pelas proteínas que as ativam. Essa característica cíclica das proteínas que ativam as quinases foi responsável pelos seus nomes (ALBERTS *et al*, 2002). Ciclinas são um grupo de proteínas relacionadas que contêm uma região homóloga conservada (cyclin Box) (CLURMAN & ROBERTS, 1997). As ciclinas se ligam as quinases, que reorientam a configuração dos grupos fosfatos para facilitar a transferência de fosfatos para os substratos protéicos, levando a mudanças morfológicas de forma a bloquear a entrada das proteínas nos sítios ativos (DEBONDT *et al*, 1993; JEFFREY *et al*, 1995). Por essa característica as quinases dependentes de ciclinas ou Cdks receberam esse nome. Cdks são proteínas de 30 a 40 KD que têm mais de 40% de identidade de seqüência, além de grandes similaridades funcionais e regulatórias (PERRY & LEVINE, 1993).

Existem quatro tipos de Cdks ativadas: a Cdk G1/S que permite ao DNA duplicar-se, a Cdk S que também é importante para a duplicação do DNA, a Cdk M que promove vários eventos da mitose e a Cdk G1 que promove a passagem da célula pela fase G1 sem que essa entre em quiescência. De forma que cada fase do ciclo celular é caracterizada por um único padrão de atividade das Cdks. A Cdk G1/S precisa da ciclina E para ser ativada em vertebrados e equivale a Cln1 e Cln2 em leveduras, a Cdk S precisa da ciclina A em vertebrados e equivale a Clb5 e Clb6 nas leveduras, a Cdk M da ciclina B nos vertebrados e equivale as Clb1, Clb2, Clb3 e

Clb4 nas leveduras, e por fim a Cdk G1 da ciclina D nos vertebrados (D1, D2, D3 nos mamíferos) que equivale a Cln3 nas leveduras (ALBERTS *et al*, 2002).

Uma importante função das ciclinas é direcionar as Cdk de forma que a fosforilação ocorra por dois mecanismos: pela presença das ciclinas e pela presença do substrato. As Cdks não são ativadas somente pela ciclinas. As ciclinas primeiramente promovem uma ativação incompleta dessas Cdks e uma outra quinase, conhecida por quinase ativadora de Cdks ou CKA, fosforila um outro sítio promovendo assim a completa ativação das Cdks. Existe ainda uma sintonia fina da ação dessas Cdks, quinases como a Wee1 que fosforilam sítios inibindo a ação das Cdks enquanto a Cdc25 faz o papel inverso (ALBERTS *et al*, 2002).

Algumas proteínas são capazes de se ligarem ao complexo Cdk-ciclinas inibindo a ação dessas, essas proteínas são conhecidas como Proteínas Inibidoras de Cdks ou CKIs. Em leveduras dois tipos de CKIs foram descritos: o primeiro pode ser induzido e liga a célula a estímulos extracelulares, o segundo é um componente intrínseco do ciclo mitótico (CLURMAN & ROBERTS, 1997). Um exemplo do primeiro tipo é a proteína FAR1 que é induzida por ferormônios e se liga inibindo a cln-cdk1 (cdk1 antigamente era conhecida como Cdc28 em leveduras de brotamento e Cdc2 nas de ficção) o que leva à parada do ciclo no START. O segundo tipo pode ser exemplificado pela Sic1 que é um elemento constitutivo do ciclo e não é conhecida indução por sinais externos (MENDENHALL, 1993). Em mamíferos, duas classes de CKIs distinguíveis pelo alvo são: a família Cip/Kip (p21, p27 e p57) que podem inibir todas as Cdks e as proteínas INK4 (p15, p16, p18 e p19) que só inibem as Cdks 4 e 6 (CLURMAN & ROBERTS, 1997).

A forma de destruição das ciclinas é a ubiquitinização, ou seja a adição de marcadores moleculares a sua superfície que levam a destruição dessas em

proteossomas (ALBERTS *et al*, 2002) que é um complexo 26S que contém várias enzimas proteolíticas e que reorganiza e degrada especificamente proteínas marcadas (CICCHANOVER, 1994; ULRICH, 2002). Esses marcadores são chamados de Ubiquitinas cuja a conjugação a uma proteína é o sinal para a sua entrega ao proteossoma. Para a sua adição ocorre uma reação de vários passos na qual a ubiquitina finalmente é adicionada por uma ligação tiol-éster às cadeias laterais de lisinas da proteína alvo (ULRICH, 2002). Enzimas chamadas de Ligases de Ubiquitinas (também conhecidas como E3) são responsáveis por essa ubiquitinação. Diferentes ligases são responsáveis pela ubiquitinação das diferentes ciclinas das fases do ciclo celular (ULRICH, 2002), já que os estímulos que ativam essas ligases são diferentes (ALBERTS *et al*, 2002).

A atividade das Cdks é reguladas pela taxa de transcrição do gene que codifica as ciclinas. Dessa forma, além da proteólise, mecanismos transcricionais podem estar regulando a ação das Cdks, o que está provavelmente ligado à fosforilação de algumas proteínas reguladoras da expressão gênica (ALBERTS *et al*, 2002).

A duplicação do DNA começa em uma região chamada de ORI nas bactérias e que equivale ao local onde o Complexo de Reconhecimento de Origem ou ORC se liga. Esse complexo protéico serve de base para várias outras proteínas que regulam o início da duplicação. A proteína Cdc6 se liga ao ORC no começo de G1 onde ela é importante para a formação de um complexo de proteínas semelhantes chamados Mcm. Essa ligação leva á formação do complexo pré-duplicatório ou pré-RC. Uma vez que esse complexo esteja montado, ainda em G1, a origem da duplicação está pronta. A ativação da S-Cdk é que vai desencadear o processo. A S-Cdk juntamente com a ação de uma outra quinase fosforilam o ORC, levando o

complexo à funcionalidade (ALBERTS *et al*, 2002). Em vertebrados a ciclina A aumenta antes da entrada na fase S em células estimuladas com fatores de crescimento (CLURMAN & ROBERTS, 1997).

A S-Cdk também previne a duplicação repetida do DNA, já que é capaz de fosforilar Cdc6 que se dissocia de ORC, desmarcando assim a pré-RC, o que limita o ORC a ser utilizado apenas uma vez por ciclo. A Cdc6 fosforilada é ubiquitinizada e então é destruída em proteossomas. A M-Cdk é capaz de fosforilar Cdc6 e Mcm e a G1/S-Cdk promove a saída de Mcm do núcleo diminuindo a oferta para se formar o pré-RC (ALBERTS *et al*, 2002).

A atividade inibitória tem que ser desativada para que o ciclo aconteça novamente após a divisão celular. Assim, no final da Mitose, toda a ação das Cdks é reduzida a zero possibilitando a repetição do ciclo (ALBERTS *et al*, 2002).

A maior parte das células, durante as fases S e durante a mitose, aciona a M-Cdk, devido à produção e acúmulo da ciclina B. Essa produção e a ligação da ciclina B com a Cdk1 forma a M-Cdk que, por fim, é ativada por uma CKA, como foi dito anteriormente. Porém, apesar da fosforilação pela CKA, a M-Cdk é também fosforilada em dois sítios vizinhos por Wee1 (para que permaneça inativa). Dessa forma, no final de G2, a célula contém uma grande concentração de M-Cdk inibidas por Wee1 (ALBERTS *et al*, 2002).

No final da fase G2, a fosfatase Cdc25 remove a fosforilação da M-Cdk tornando-a ativa (SADHU *et al*, 1990; SEBASTIAN *et al*, 1993; STRAUSFIELD *et al*, 1991). A Cdc25 é ativada por duas quinases: a Polo quinase e a M-Cdk. A M-Cdk ainda inibe a ação de Wee1 de forma que no final de G2 a sua atividade cresce rapidamente por um mecanismo de “*feedback*” positivo. O que desencadeia o processo é provavelmente uma ativação ainda que incompleta de Cdc25 pela Polo

quinase, que ativa algumas M-Cdks e pelo mecanismo descrito acima que continua o processo. Dessa forma, rapidamente todas as M-Cdks da célula estão ativadas. Esse mecanismo pode ser descrito como um mecanismo de “tudo ou nada” e mecanismos semelhantes ocorrem durante outros pontos do ciclo celular (ALBERTS *et al*, 2002). No final, todo esse mecanismo serve para ativar a M-Cdks e causar a entrada da célula na mitose (CLURMAN & ROBERTS, 1997).

Um dos pontos de checagem do ciclo celular é o final da duplicação do DNA, como já foi dito anteriormente, que impede a saída da fase S sem que todo o DNA tenha sido duplicado. Assim, se todo o material genético não tiver sido devidamente duplicado, uma quinase fosforila e inibe a ação da Cdc25 mantendo a M-Cdk fosforilada (ALBERTS *et al*, 2002). Essa via é controlada pelo gene RAD9 (CLURMAN & ROBERTS, 1997).

A M-Cdk atua em várias frentes durante o processo de mitose. Atua na formação do fuso mitótico, na adesão do cromossomo ao fuso, na condensação dos cromossomos, na quebra da carioteca, no rearranjo das fibras de actina, do golgi e do retículo endoplasmático. Essas tarefas são feitas por enzimas que são ativadas por fosforilação feita pela M-Cdk. A M-Cdk fosforila a laminina o que causa a despolimerização e fragmentação da lâmina interna da carioteca, promove a formação de um complexo chamado condensina que atua na condensação dos cromossomos fosforilando uma das sub-unidades desse complexo, e fosforila algumas proteínas que regulam o comportamento dos micortúbulos tornando-os instáveis, promovendo a formação do fuso mitótico (ALBERTS *et al*, 2002).

Um complexo protéico chamado de Complexo Promotor de Anáfase ou APC é uma ligase de ubiquitina; parecida com a proteína E3 é responsável pela destruição de várias proteínas que regulam a mitose, entre elas a ciclina B (CLURMAN &

ROBERTS, 1997); ele começa a agir após a deflagração dos estímulos produzidos pela M-Cdk, que levam a célula à mitose. O APC é uma partícula 20S que inclui pelo menos três proteínas, cdc16, cdc23 e cdc27 (*SEUFERT et al, 1995*). As cromátides são forçadas a se separar pelos fusos mitóticos, porém o que as mantém unidas é um complexo de proteínas chamado de complexo de coesinas que é adicionado ao cromossomo durante a sua duplicação na fase S. A separação das cromátides ocorre no começo da Anáfase, promovida pela ação de uma protease chamada separase sobre as coesinas. O APC promove a destruição da securina que é uma proteína inibidora da separina, liberando-a para agir. Para que o APC seja ativo é necessária a ligação de Cdc20, cuja produção é estimulada com a proximidade da mitose e a capacidade de ligação aumenta com a fosforilação do APC (*NASMYTH et al, 2000*). A M-Cdk é importante para a fosforilação desse complexo, porém existe um atraso, ainda não é entendido, entre o aumento da ação de M-Cdk e do complexo Cdc20-APC (*ALBERTS et al, 2002*)..

Um ponto de checagem importante ocorre antes da separação das cromátides, podendo atrasá-la de forma que esta só ocorra quando todas se encontram ligadas ao fuso mitótico (*CLURMAN & ROBERTS, 1997*). Esse mecanismo ocorre pela ação de uma proteína que se liga ao complexo Cdc20-APC inibindo a sua ação via Map quinase-dependente (*CLURMAN & ROBERTS, 1997*). Essa proteína, chamada Mad2, impede a destruição da securina, inibindo a separação das cromátides. A produção de Mad2 é estimulada pela presença de cinetócoros não ligados ao fuso mitótico (mecanismo de produção ainda não totalmente elucidado) (*ALBERTS et al, 2002*).

Uma outra ação importante do complexo Cdc20-APC é a ubiquitinação da ciclina B (como já foi dito anteriormente) e dessa forma a desativação da M-Cdk.

Esse processo sozinho, em alguns casos com a ajuda de fosfatases, leva a desativação das proteínas responsáveis pela mitose. Como o Cdc20-APC é estimulado pela M-Cdk, após a destruição da ciclina B, esse complexo é desativado. Frequentemente essa produção é inibida por várias vias, apesar de em alguns tipos celulares os níveis de ciclina B logo voltarem ao normal. Essa inibição possibilita à célula receber os estímulos externos e assim tomar a via que leva a nova duplicação ou entrar em G0. Apesar do complexo Cdc20-APC perder atividade com a destruição da ciclina B, uma proteína semelhante ao Cdc20, chamada Hct1, se liga ao APC mantendo os níveis de ciclina B baixos. O Hct1 é inibido pela M-Cdk, e por isso com a diminuição das ciclinas B a sua atividade aumenta. A M-Cdk também inibe uma proteína responsável pela sua própria inibição: a CKI P27. Bloqueia também a expressão do gene que codifica a P27, fosforilando uma proteína que controla a expressão desse gene. Dessa forma, com a diminuição da atividade da M-Cdk no final da mitose, a P27 se ativa ligando-se à M-Cdk inibindo sua ação (ALBERTS *et al*, 2002).

O inibidor de cdk p27Kip1 é importante na resposta celular a fatores de crescimento. A sua ação leva a uma parada na divisão celular durante o tempo em que a sinalização pelos fatores de crescimento estiver ocorrendo, assim p27 é fracamente expressa nas células em proliferação, mas na vigência de uma sinalização por hormônios de crescimento a sua expressão é bastante aumentada (COATS *et al*, 1996).

A M-Cdk também regula a produção da ciclina B, aumentando a transcrição, o que leva a uma diminuição da produção de ciclina B durante o período inicial de G1. Assim, a destruição de ciclina B pela ubiquitinação pelo Hct1-APC, a inativação

pela CKI P27 e a diminuição da transcrição da ciclina B são responsáveis pela inatividade da M-Cdk durante G1 (ALBERTS *et al*, 2002).

Durante a fase G1, começa a ser produzida a ciclina D que não sofre ação nem de Hct1-APC, nem de P27, levando a ativação de G1-Cdk. A G1-Cdk é responsável pela estimulação da produção de ciclina E, e conseqüentemente à ativação de G1/S-Cdk. Esta novamente estimula a produção de ciclina A, ativando a S-Cdk. Esta última é inibida por Sic1, a qual é fosforilada pela ação de G1/S-Cdk e assim desativada, levando à ativação de S-Cdk. Por fim, tanto G1/S-Cdk quanto S-Cdk fosforilam Hct1-APC, levando o complexo à inatividade (ALBERTS *et al*, 2002).

Um fato importante é a resposta da célula aos estímulos externos para que a célula inicie o ciclo celular. Durante o período que antecede o estímulo externo, a E2F, uma proteína com a capacidade de estimular a transcrição dos genes que transcrevem os fatores necessários para a fase S inclusive G1/S-Cdk e S-Cdk, se encontra inibida pela proteína do retinoblastoma ou Rb [alguns trabalhos sugerem uma desregulação da transcrição de E2F como tratamento anti-câncer levando as células tumorais à apoptose (SUSHIL *et al*, 2001)]. Uma vez recebido o estímulo externo, ocorre o aumento da concentração de G1-Cdk ativo na célula que leva a dissociação da Rb com E2F aumentando a produção das proteínas necessárias para a fase S. A E2F livre aumenta a sua própria produção e G1/S-Cdk e S-Cdk aumentam a fosforilação de Rb aumentando a ação de E2F, o que acelera o processo (ALBERTS *et al*, 2002). A via regulada pela presença de Rb que inclui p16, ciclina D, cdk4, E2F ou a própria Rb, pode estar mutada em 100% dos cânceres humanos (CLURMAN & ROBERTS, 1995; SHERR, 1996; JIANG *et al*, 1993; LEE *et al*, 1988; KAMB *et al*, 1994). Algumas proteínas de DNA-tumor-vírus podem inativar a Rb e acredita-se que possam também inativar CKIs Cip/Kip (p21, p27, p57)

mantendo a célula ciclando para que continue a replicação viral (FUNK & GALLOWAY, 1998).

Existe ainda outro fator para ser esclarecido: com a retirada dos centrossomos de uma célula na fase S, a mitose ocorre normalmente, porém a progênie pára em G1. Esses achados sugerem que para a progressão da fase G1 é necessário algum fator que normalmente está associado ao centrossomo (RIEDER *et al*, 2001).

A divisão celular deve ter uma regulação para que a célula respeite o aumento de suas dimensões e organelas antes que ocorra a mitose. Dessa forma, previne-se que as células fiquem cada vez menores multiplicando-se rápido demais, ou cada vez maiores, se a velocidade do ciclo for diminuída. Acredita-se que esse papel tenha uma relação bastante próxima com uma ciclina conhecida como Cln3, pois sua concentração aumenta proporcionalmente ao aumento do tamanho da célula e estimula a mitose quando aumenta mais que três vezes. Uma das teorias sobre o funcionamento de Cln3 é a existência de um inibidor que tenha uma quantidade estanque, de forma que, após um aumento regular, a atividade de Cln3 superasse a potência de seu inibidor levando à divisão celular. Apesar de não ter sido provado, alguns pesquisadores acreditam que esse inibidor possa ser o DNA ou alguma proteína intimamente ligada a ele, já que se observa que o tamanho das células são normalmente proporcionais a sua ploidia. Porém, algumas células continuam a se multiplicar apesar de não aumentarem o seu tamanho, diminuindo a cada ciclo, e outras crescem sem que se dividam (ALBERTS *et al*, 2002).

Existem ainda dois pontos de revisão que levam em conta erros do DNA: um no começo da fase G1, que encontrando erros, não permite que a célula duplique o seu DNA; e outro na fase G2 que impede o avanço para a mitose. A via de resposta

aos danos em DNA é uma via de transdução de sinais que consiste de sensores, transdutores e efetores. O mecanismo para o bloqueio da mitose no ponto de checagem em G2 é mediado por quinases como Chk1 e Chk2, que fosforilam cdc25 (ZHOU & ELLEDGE, 2000) inativando-o, dessa forma não ativando M-Cdk. Essas quinases são estimuladas pela sinalização do DNA com erros. Em G1 os erros no DNA estimulam a ação de uma proteína chamada p53 que atua estimulando a transcrição de vários genes, entre eles o gene que codifica uma proteína conhecida como p21 (que se liga à G1/S-Cdk e S-Cdk inibindo suas atividades impossibilitando a passagem para a fase S) e o que codifica a proteína 12-3-3 σ (que captura a fosfatase Cdc25) (DDAUJAT *et al*, 2001). A destruição de p53 ocorre por ubiquitinação realizada pela Mdm2 (uma ligase) na célula normal, ou seja, sem erros de DNA. Pode ainda ocorrer inibição transativacional de p53 por Mdm2. Sendo Mdm2 transativado por p53, essa via funciona como uma sintonia fina entre os dois o que causa o equilíbrio (FUNK *et al*, 2001). Nas células com alterações de DNA, ocorre uma ativação de algumas quinases que fosforilam a p53 inibindo a ligação de Mdm2 e assim aumentando a atividade de p53. A Mdm2 é provavelmente reguladora de duas outras proteínas: a Rb e a E2F, já descritas anteriormente. Nesse caso a Mdm2 se liga a Rb liberando E2F ou estimula a E2F por ativação direta de suas propriedades (DDAUJAT *et al*, 2001). Essa estimulação das propriedades de E2F pode ser uma modulação, impedindo que, por exemplo, o aumento muito grande de E2F leve a célula à apoptose, já que na ausência de p53, Mdm2 pode estimular as propriedades apoptóticas de E2F. Essas informações podem parecer contraditórias, porém corroboram com a idéia de que Mdm2 pode regular a expressão exagerada de E2F para a passagem adequada de G1 para a fase S (DDAUJAT *et al*, 2001). Durante a presença de sinais oncogênicos, como c-MYC e E1A, ARF (um produto

do gene INK4a/ARF, é uma proteína inibidora do ciclo celular) se liga à Mdm2 e inibe a degradação de p53, aumentando a meia-vida e a transativação dos genes responsivos á P53 (FUNK *et al*, 2001).

Um gene encontrado mutado, e assim desativado na ataxia telangectasia (AT) é conhecido como o gene ATM e produz uma proteína quinase serina/treonina, cujos alvos incluem p53, Mdm2, CHK2, NBS1, e BRCA1. A interação com p53 é intrigante, pois p53, como já foi dito, é muito importante na presença de danos ao DNA. Porém, foi observado que essas proteínas são fosforiladas em células irradiadas de pacientes com AT, ainda que com atraso. O que corrobora a teoria de que existam outras vias para a resposta à irradiação (FUNK *et al*, 2001).

A proteína p53 é bastante estudada, já que cerca de metade das células tumorais tem algum defeito no funcionamento dessa via (ALBERTS *et al*, 2002) e porque a perda de p53 predispõem a cânceres em uma frequência muito grande (PERRY & LEVINE, 1993). Na presença de grandes danos nas células, p53 leva as células à apoptose, que é um tipo de morte celular programada (ALBERTS *et al*, 2002).

Referências.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K., WALTER, P. The cell cycle and programmed cell death. In: ALBERTS, B; JOHNSON, A; LEWIS, J; RAFF, M; ROBERTS, K, WALTER, P (eds) **Molecular Biology of the Cell**. 4th ed. Garland Science Taylor & Francis Group, New York, pp 983–1009, 2002.

CLURMAN, B.E.; ROBERTS, J.M. Cell cycle and cancer. **J Natl Cancer Inst**, v.87, p.1499-1501, 1995.

COATS, S.; FLANNAGAN, W.M.; NOURSE, J., ROBERTS, J. Requirement of P27Kip1 for restriction point control of the fibroblast cell cycle. **Science**, v.272, p.877-880, 1996.

DE BONDT, H.L.; ROSENBLATT, J.; JANCARIK, J.; JONES, H.D.; MORGAN, D.O.; KIM, S.H.; Crystal structure of cyclin-dependent kinase 2. **Nature**, v.363, p.595-602, 1993.

FUNK, J.O.; GALLOWAY, D.A. Inhibiting CDK inhibitors: new lessons from DNA tumor viruses. **Trends Biochem Sci**, v.23, p.337-341, 1998.

FUNK, J.O.; SAMUEL, T.; WEBER, O. DNA Damage, Cell Cycle Control and Cancer. In: Blagoslony MV (ed) **Cell Cycle Checkpoints and Cancer**. 1st ed. Landes Biosciences, Austin, pp 64-77, 2001.

HARTWEL, L.; CULLOTTI, J.; PRINGLE, J.R.; REID, B. Genetic control of the cell division cycle in yeast. **Science**, v.183, p.46-51, 1974.

JEFFREY, P.D.; RUSSO, A.A.; POLYAK, K.; GIBBS, E.; HURWITZ, J.; MASSAGUE, J.; PAVLETICH, N.P. Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclinA-CDK2 complex. **Nature**, v.376, p.313-320, 1995.

JIANG, W.Y.; ZHANG, Y.; KAHN, S.M.; HHHOLLSTEIN, M.; SANTELLA, M.; LU, S.; HARRIS, C.C.; MONTESANO, R.; WEINSTEIN, I.B. Altered expression of the cyclin D1 and

retinoblastoma genes in human esophageal cancer. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.90, p.9026-9030, 1993.

KAMB, A.; GRUIS, N.A.; WEAVER-FELDHAUS, J.; LIU Q.; HARSHMAN, K.; TAVTIGIAN, S.V.; STOCKERT, E.; DAY, R.S. III; JOHSON, B.E.; SKOLNICK, M.H. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. **Science**, v.264, p.436-440, 1994.

LEE, E.; TO, H.; SHEW, J.; BOOKSTEIN, R.; SCULLY, P.; LEE, W.H. Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. **Science**, v.241, p.218-221, 1988.

MENDENHALL, M.D. An inhibitor of p34CDC28 protein kinase activity from *Saccharomyces cerevisiae*. **Science**, v.259, p.216-219, 1993.

NASMYTH, K.; PETERS, J.M.; UHLMANN, F. Splitting the chromosome: cutting the ties that bind sister chromatids. **Science**, v.288, p.1379-1385, 2000.

NURSE P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. **Nature**, v.344, p.503-508, 1990.

PERRY, M.E.; LEVINE, A.J. The Cell Cycle. In: Levine AJ, Schmidk HM (Eds) **Molecular Genetics of Nervous System Tumors**. 1st Ed. Wiley, John & Sons, Incorporated, Hoboken, pp 83-88, 1993.

RIEDER, C.L.; FARUKI, S.; KHODJAKOV, A. The centrosome in vertebrates: more than a microtubule-organizing center. **Trends Cell Biol**, v.11, p.413-419, 2001.

SADHU, K.; REED, S.; RICHARDSON, H.; RUSSELL P. Human homolog of fission yeast cdc25 mitotic inducer is predominantly expressed in G1. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.87, p.5139-5143, 1990.

SEBASTIAN, B.; KAKIZUKA, A.; HUNTER, T. Cdc25M2 activation of cyclin-dependent kinases by dephosphorylation of threonine-14 and tyrosine-15. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.90, p.3521-3524, 1993.

SEUFERT, W.; FUTCHER, B.; JENTSCH, S. Role of a ubiquitin-conjugating enzyme in degradation of S-phase and M-phase cyclins. **Nature**, v.373, p.78-81, 1995.

SHARMA, S.K.; RAMSEY, T.M.; CHEN, Y.N.; CHEN, W.; MARTIN, M.S.; CLUNE, K.; SABIO, M.; BAIR, K.W. Identification of E2F-1/Cyclin A antagonists. **Bioorg Med Chem Lett**, v.11, p.2449-2452, 2001.

STRAUSTIELD, V.; LABBE, J.C.; FESQUAT, O.; CAVADORE, J.C.; PICARD, A.; SADHU; RUSSELL, P.; DUREC, M. Dephosphorylation and activation of a p34cdc2/cyclin B complex in vitro by human CDC25 protein. **Nature**, v.35, p.242-245, 1995.

ULRICH, H.D. Degradation or Maintenance: Actions of the Ubiquitin System on Eukaryotic Chromatin. **Eukaryotic Cell**, v.1, p.1-10, 2002.

ZHOU, B.B.; ELLEDGE, S.J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. **Nature**, v.408, p.433-9, 2000.