

TOPOISOMERASES COMO ALVOS DE DROGAS ANTICÂNCER

Douglas Neves do Nascimento¹, Fabrício da Silva Prates^{2,5}, Elisângela Ribeiro de Queiroz^{3,5}, Catarina Akiko Miyamoto^{4,5*}

¹ Graduando em Farmácia, Faculdades Integradas de Três Lagoas – AEMS; ² Farmacêutico – FITL/AEMS, MBA em Gestão Pública – FABRAS; Esp. em Gestão em Saúde – UNIP; ³ Farmacêutica-Bioquímica – Centro Universitário Nilton Lins, Esp. em Citologia Clínica – Conselho Federal de Farmácia e Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, Esp. em Farmacologia – UNOESTE; ⁴ Farmacêutica-Bioquímica – USP; Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) – USP; Pós-doutorado – Weill Medical College of Cornell University; ⁵ Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

* autor correspondente: catarinany@gmail.com

RESUMO

Os processos de replicação nuclear e mitocondrial são altamente dependentes da atividade das topoisomerases, responsáveis por resolver os problemas topológicos que ocorrem à medida em que as duas cadeias de DNA são separadas e replicadas. São conhecidos três tipos principais de topoisomerases, as do tipo IA (TOPO IA), tipo IB (TOPO IB) e tipo IIA (TOPO IIA). A bioquímica das topoisomerases envolve a alteração da topologia do DNA e do RNA pela quebra e religação das cadeias polinucleotídicas. O sítio catalítico das topoisomerases contém uma tirosina (Y) altamente conservada, essencial para a sua atividade enzimática. Durante a clivagem, o grupo OH da cadeia lateral da Y ataca o grupo fosfato da ligação fosfodiéster e cria uma ligação covalente transiente. Em seguida, a topoisomerase move ou gira o ácido nucleico em torno do ponto de clivagem (resolve o problema topológico), e a ligação fosfodiéster é restaurada. As topoisomerases I e II também resolvem os problemas topológicos que surgem durante o reparo do DNA clivado. Os fármacos inibidores das topoisomerases são usados no tratamento do câncer, pois inibem o crescimento e a proliferação de células cancerígenas; se ligam à enzima por ligação covalente entre a Y do sítio ativo e um dos nucleotídeos, assim inibem as religações entre as duas fitas de DNA. Isto ajuda a prevenir a proliferação de novas células cancerígenas e a matar as já existentes. A combinação de inibidores da topoisomerase com nanotecnologia é promissora, pois a droga pode ser direcionada às células cancerígenas, de forma mais precisa.

PALAVRAS-CHAVES: replicação DNA; nanotecnologia anticâncer; TOPOI; TOPOII.

1 INTRODUÇÃO

O câncer, doença que mata milhares de pessoas, tem origens ambientais (maioria dos casos) e genéticas. Dentre os primeiros incluem-se as práticas não saudáveis, como má alimentação, tabagismo, sedentarismo, entre outros (BUKOWSKI; KCIUK, KONTEK, 2020).

No Brasil, de acordo com as projeções epidemiológicas realizadas (2022),

o número de casos de câncer pode aumentar em até 8% nos próximos anos. É a segunda causa de mortes no país, atrás apenas de doenças cardiovasculares. Estimativas indicam que cerca de 1 milhão de brasileiros podem ser diagnosticados com alguma forma de câncer. Além disso, os dados também mostram que os casos mais frequentes são, em sequência, os de pele, pulmão, mama, colo de útero e próstata (INCA, 2022).

O Ministério da Saúde tem se empenhado em adotar medidas para melhorar o diagnóstico, prevenção e tratamento do câncer, como a implementação de protocolos de vigilância epidemiológica, ações de educação em saúde e promoção de estilos de vida saudáveis para reduzir o risco de desenvolver a doença (BRASIL, 2013).

Tradicionalmente, o tratamento do câncer é longo e envolve quimioterapia com fármacos (de origem natural e sintética) de distintos mecanismos de ação que atuam na destruição celular para se evitar o progresso da neoplasia (GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION, 2019). No entanto, a terapia prolongada pode ocasionar resistência a multidrogas (MDR, do inglês, *multidrug resistance*) com subsequente perda ou diminuição da eficácia, logo há necessidade do aumento da dose, substituição ou associação de fármacos (WU et al., 2014). Ademais, este tipo de terapia é a principal causa de óbitos (~90%) a pacientes em tratamento por quimioterápicos (NUSSBAUMER et al., 2011).

As causas da MDR são distintas, como alto metabolismo de xenobióticos, aumento na taxa de reparo do DNA, efluxo de drogas, mutações gênicas nas sequências regulatórias e/ou nos genes estruturais e alterações epigenéticas (WANG; ZHANG; CHEN, 2019).

Os medicamentos anticancerígenos são classificados conforme seus mecanismos de ação em antimetabólitos, agentes alquilantes, inibidores do fuso mitótico e inibidores das topoisomerases (KIKUCHI et al., 2019).

Os antimetabólitos interferem nas vias biossintéticas essenciais dos processos de replicação e transcrição. São diferenciados em vários grupos, como (i) antagonistas de pirimidina e de purina (prejudicam a síntese de DNA e RNA); (ii) análogos de purinas e (iii) inibidores das enzimas diidrofolato redutase, ribonucleotídeo redutase e da DNA polimerase (MARCHI; O'CONNOR, 2012).

Os agentes alquilantes agem por ligações cruzadas intrafitas ou transferem grupos alquila para resíduos de guanina do DNA, resulta em formação errada de pares de bases e torna inviável a separação das fitas durante a síntese. Essa classe de medicamentos é formada por oxazafosforinas, mostarda nitrogenada, hidrazina e agente alquilante tipo *off-on* (ainda sob investigação terapêutica) (MARCHI; O'CONNOR, 2012).

Os inibidores do fuso mitótico (taxanos e alcaloides vinca) agem na modificação da formação e função dos microtúbulos do fuso durante a divisão nuclear e assim gerar a morte celular (NUSSBAUMER et al., 2011).

Os inibidores das topoisomerases (doxorubicina, epirubicina, etoposídeo, teniposídeo e mitomicina) (WANG; ZHANG; CHEN, 2019) são drogas que inibem as enzimas topoisomerases, que têm a função de resolver problemas estruturais topológicos que ocorrem durante os processos de replicação, transcrição, recombinação genética e compactação do DNA (SAHA et al., 2020; NELSON; COX, 2014; NITISS, 2009).

Uma abordagem atual para o tratamento do câncer é a utilização de nanotecnologia para a entrega direta das drogas no tumor. Nanopartículas, da ordem de 10^{-9} m (1 nm), carregadoras de medicamentos podem ser direcionadas às células cancerígenas específicas e destruí-las sem interferir na função das saudáveis (BOTTINO; FRÁGUAS; GATTAZ, 2009).

O objetivo deste trabalho é descrever o mecanismo de ação das topoisomerases I e II no processo da replicação, o mecanismo de resistência a multidrogas no tratamento do câncer e liberação de drogas anti-topoisomerases por métodos nanotecnológicos.

O desenvolvimento da escrita baseou-se em artigos científicos internacionais (2013-2023) indexados em plataformas especializadas como PubMed, Scielo e Google Acadêmico. A seleção

dos artigos foi de acordo com a pertinência à temática e relevância ao estudo com a utilização das palavras-chave nanotecnologia do câncer, nanopartículas tratamento câncer, drogas anti-topoisomerasas I e II, entre outras.

2 TOPOISOMERASES E SEU PROTAGONISMO ORGANIZACIONAL NO GENOMA HUMANO

Superenrolamentos positivos ou negativos ($Sc^{+/+}$), emaranhamento ou entrelaçamentos de moléculas de DNA e RNA são definidos como problemas estruturais topológicos que ocorrem em vários processos celulares, como replicação, transcrição, recombinação genética e compactação do DNA (SAHA et al., 2020; NITISS, 2009).

Topoisômeros complexos, também conhecidos como topoisômeros de ordem superior, são formas alternativas de moléculas de DNA ou de algumas proteínas, que apresentam diferenças na sua estrutura tridimensional, mas compartilham a mesma sequência de nucleotídeos ou aminoácidos. Essas diferenças estruturais ocorrem devido a alterações nas configurações espaciais das moléculas, como torções ou dobras (LOPEZ-MOSQUEDA et al., 2016).

Os topoisômeros complexos são chamados de “complexos” porque envolvem mudanças nas características estruturais mais complexas das moléculas, em comparação com os topoisômeros simples. Os topoisômeros simples, por sua vez, referem-se a formas de moléculas que diferem apenas na configuração de seus laços ou nós, sem alterações significativas na sua estrutura global (BJORNSTI; KAUFMANN, 2019).

O entendimento dos topoisômeros complexos tem sua importância associada à compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a processos biológicos fundamentais e podem ter aplicações na pesquisa médica e no desenvolvimento de terapias para doenças

relacionadas ao DNA e às proteínas (VAZ et al., 2016).

Atualmente, são conhecidos três tipos principais de topoisomerasas, as do tipo IA (TOPO IA) (MÓROCZ, et al., 2017), tipo IB (TOPO IB) (BORGERMANN, et al., 2019) e tipo IIA (TOPO IIA) (VAZ et al., 2016).

As TOPO IA englobam enzimas monoméricas capazes de catalisar mudanças na topologia (relaxamento de superenrolamentos negativos e indução de torções positivas) do DNA por meio da clivagem e religação de uma única fita de DNA, sem necessidade da energia de hidrólise de ATP. Exemplos de TOPO IA incluem a topoisomerase I bacteriana e a topoisomerase I humana (LEE; BERGER, 2019; MÓROCZ et al., 2017).

As TOPO IB também podem alterar a topologia do DNA pela quebra e religação de uma única fita, mas utilizam a energia de hidrólise do ATP para esse processo. Também estão envolvidas na remoção de superenrolamentos negativos do DNA, além de estarem associadas ao relaxamento do DNA durante a transcrição e recombinação genética. A topoisomerase IIB, indispensável na transcrição em células diferenciadas, é um exemplo de topoisomerase Tipo IB (BORGERMANN et al., 2019; POMMIER et al., 2016).

As TOPO IIA agem como homodímeros e são capazes de alterar a topologia do DNA por meio da clivagem e religação simultânea de ambas as fitas do DNA com a utilização da energia de hidrólise do ATP. Deste modo, permite a passagem de grandes segmentos do DNA através de uma hélice dupla. Essas enzimas são fundamentais na regulação do superenrolamento do DNA, no processo de condensação dos cromossomos e na resolução de emaranhados cromossômicos durante a replicação e segregação cromossomal durante a mitose. Exemplos de TOPO IIA incluem a DNA girase bacteriana (topoisomerase

IV) e as TOPOII encontradas em células eucarióticas (POMMIER et al., 2016; VAZ et al., 2016; KOUZINE; LEVENS; BARANELLO, 2014).

No genoma humano há também as topoisomerases do tipo III que têm atividades semelhantes às das TOPOI e TOPOII; atuam como uma helicase de ramificação de DNA, ou seja, são capazes de desenrolar o DNA nas regiões ramificadas (JIANG et al., 2021).

2.1 Topoisomerases I e II no processo da replicação

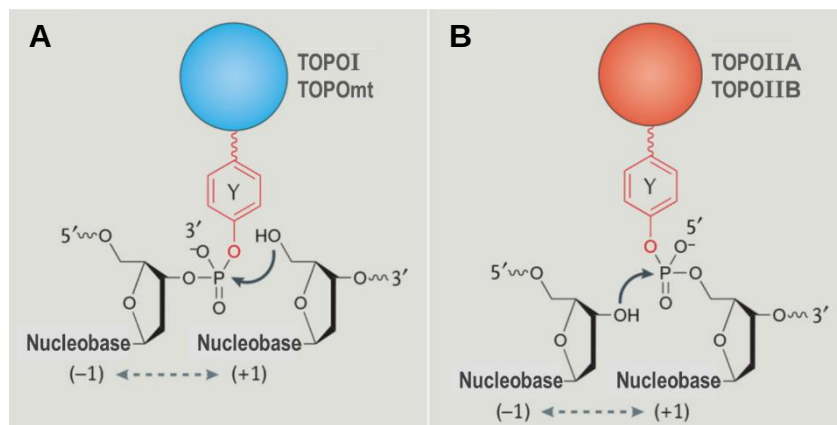
Os processos da replicação dos genomas nuclear e mitocondrial são complexos; as enzimas e proteínas envolvidas são altamente reguladas e coordenadas para garantir que as células se dividam de maneira precisa e eficiente (NICHOLLS et al., 2017; YANG, 2010).

A replicação do genoma nuclear é altamente regulada e coordenada por uma série de proteínas e enzimas que trabalham em conjunto para garantir que

o DNA seja replicado com precisão e sem erros. O processo se inicia pela reação da helicase que desenrola a dupla hélice e permite que a DNA polimerase comece a sintetizar a cadeia de DNA complementar (POMMIER et al., 2016).

A replicação do DNA mitocondrial é semelhante à do DNA nuclear, mas com algumas diferenças notáveis (HO et al., 2021). Uma dessas é que a DNA polimerase mitocondrial é muito menos precisa do que DNA polimerase nuclear, logo a taxa de erro do processo de replicação mitocondrial é maior do que a da replicação nuclear. Isso significa que os genomas mitocondriais podem acumular mutações muito mais rapidamente do que os genomas nucleares, o que pode ter implicações para a saúde celular e envelhecimento (POMMIER et al., 2022). Ambas as replicações ocorrem independentemente, pois a mitocôndria contém sua própria maquinaria de replicação e genoma circular (HO et al., 2021).

Figura 1. Mecanismo de ação das TOPOI e TOPOII. Inicialmente, ocorre ligação covalente transiente entre o resíduo de Y conservado do sítio catalítico das topoisomerases e o grupo fosfato da ligação fosfodiéster durante a clivagem da cadeia polinucleotídica, seguida de rotação do ácido nucleico em torno do ponto de clivagem e restauração da ligação fosfodiéster por ataque nucleofílico da OH da extremidade 5' da TOPOI ou da extremidade 3' da TOPOII. A. TOPOI e TOPOmit. B. TOPOIIA e TOPOIIB.



Fonte: Adaptado de Pommier et al., 2016.

Os processos de replicação nuclear e mitocondrial são altamente dependentes da atividade das topoisomerases, responsáveis por resolver os

problemas topológicos que ocorrem à medida em que as duas cadeias de DNA são separadas e replicadas. Essas enzimas são reguladas por uma série de

proteínas auxiliares e modificações pós-traducionais (fosforilação e acetilação) para funcionamento correto e replicação eficiente (BIZARD; HICKSON, 2020; CAPRANICO; MARINELLO; CHILLEMI, 2017).

A bioquímica das topoisomerases envolve a alteração da topologia do DNA e do RNA pela quebra e religação das cadeias polinucleotídicas (KOUZINE; LEVENS; BARANELLO, 2014). O sítio catalítico das topoisomerases contém um resíduo de tirosina (Y) altamente conservado que é essencial para a sua atividade enzimática. Durante a clivagem da cadeia polinucleotídica, o grupo OH da cadeia lateral da Y ataca o grupo fosfato da ligação fosfodiéster do DNA ou RNA e cria uma ligação covalente transiente (enzima-ácido nucleico → clivagem da ligação fosfodiéster). A Figura 1 mostra a ligação covalente transiente entre a Y do sítio catalítico da enzima e o grupo fosfato da ligação fosfodiéster. Em seguida, a topoisomerase move ou gira o ácido nucleico em torno do ponto de clivagem (resolve o problema topológico), e a ligação fosfodiéster é restaurada por ataque nucleofílico da OH da extremidade 5' da TOPOI ou da extremidade 3' da TOPOII (Figura 1 – setas) (RACKO et al., 2018; POMMIER, 2016).

As enzimas TOPO I são responsáveis pela clivagem de ligações fosfodiéster entre nucleotídeos adjacentes de regiões com superenrolamentos (*supercoilings*) negativos e positivos ($Sc^{-/+}$), permite a rotação controlada da fita rompida ao redor da fita intacta e sua religação (Figura 2A; POMMIER et al., 2016; XU; HER, 2015). As TOPOI agem durante os processos de replicação do DNA, transcrição do RNA, regulação da expressão gênica e recombinação genética (religam extremidades não homólogas, e assim agem como recombinases de DNA) (THOMAS; POMMIER, 2019; JAIN; MAJUMDER; ROYCHOUDHURY, 2017).

As TOPO II, na forma de homodímeros, são responsáveis pelo

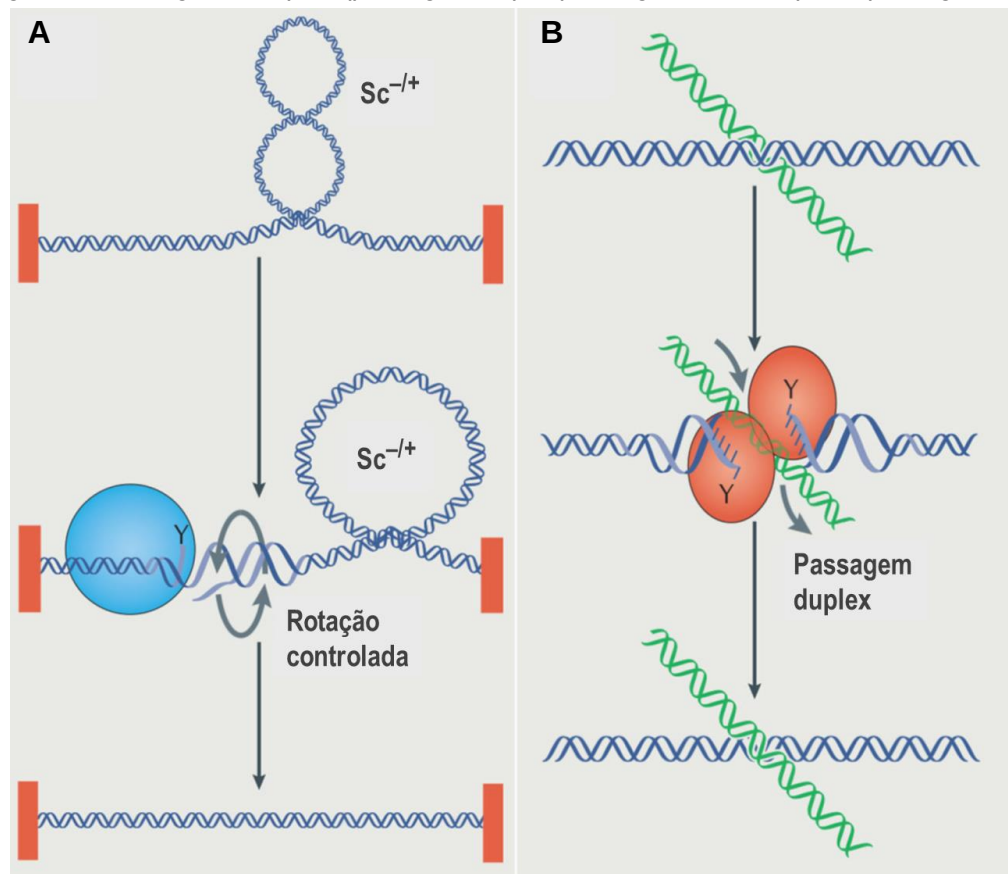
relaxamento de $Sc^{-/+}$ e resolvem os catenados (moléculas filhas catenadas formadas durante a divisão celular), e nós de DNA (replicação e transcrição). Ambas as TOPO II clivam as duas fitas de DNA com um escalonamento de quatro bases, de modo a direcionar a passagem de um segundo duplex (passagem duplex – Figura 2B) e religar o DNA após a passagem (VANN; OVIATT; ASHEROFF, 2021; POMMIER et al., 2016).

As topoisomerases I e II também podem resolver os problemas topológicos que surgem durante o reparo do DNA clivado ao permitir que as fitas sejam religadas adequadamente. A TOPO I está envolvida no processo de recombinação mediada por reparo de quebra de fita simples, enquanto a TOPO II está envolvida no reparo de quebras de fita dupla (BJORNSTI; KAUFMANN, 2020).

Deficiências nas atividades ou mutações nos genes das topoisomerases podem levar à instabilidade genômica, pois o DNA pode se tornar emaranhado e se romper (CAPRANICO; MARINELLO; CHILLEMI, 2017) com subsequentes doenças neurodegenerativas e câncer (BARANELLO et al., 2016). Isto enfatiza a importância crítica das topoisomerases na manutenção da estabilidade do genoma (JIANG et al., 2021).

A deficiência de TOPOI em camundongos resulta em defeitos no desenvolvimento, incluindo atraso no crescimento, anormalidades craniofaciais e má formação de órgãos internos. Além disso, também tem sido associada a maior sensibilidade ao dano induzido por radiação e a maior frequência de mutações (HO et al., 2021). Da mesma forma, a deficiência de TOPOII em camundongos resulta em anormalidades cromossômicas e morte embrionária precoce. Além disso, mutações no seu gene são encontradas em muitos tipos de câncer e estão associadas à resistência a certos agentes quimioterápicos (HEDAYATI et al., 2016; SCHALBETTER et al., 2015).

Figura 2. Representação esquemática do mecanismo de ação das atividades enzimáticas para o relaxamento de regiões $Sc^{-/+}$ das TOPOI e TOPOII. As TOPOI clivam ligações fosfodiester entre nucleotídeos adjacentes, permitem a rotação controlada da fita rompida ao redor da fita intacta e sua religação. B. As TOPOII clivam as duas fitas de DNA com um escalonamento de quatro bases, direcionam a passagem de um segundo duplex (passagem duplex) e religam o DNA após a passagem.



Fonte: Adaptado de Pommier et al., 2016.

2.2 Complexos covalentes estáveis entre as topoisomerases e o DNA

Perturbações metabólicas e ambientais, além do uso de certas drogas podem levar à formação de complexos covalentes estáveis entre a topoisomerase e o DNA, também conhecidos como complexos de cruzamento de fitas de topo ou catenanos de DNA (TOPOIccs e TOPOIIccs). Esses complexos são altamente tóxicos para a célula, pois bloqueiam o movimento da enzima ao longo da molécula de DNA, leva a danos genômicos e, em última instância, à morte celular (HAFFNER et al., 2011).

A formação de TOPIccs ou TOPIIccs pode ocorrer naturalmente, mas é frequentemente aumentada por agentes químicos ou físicos que podem

interromper a atividade normal das topoisomerases. Drogas quimioterápicas, como a etoposídeo e a doxorrubicina são conhecidas por inibir a atividade da TOPOII, e aumentar assim a formação de TOPIIccs (MINCHELL; KESZTHELYI; BAXTER, 2020).

O reconhecimento e a resolução dos TOPccs podem ser divididos nas etapas de reconhecimento, clivagem, passagem e religação (APARICIO et al., 2016). Na etapa de reconhecimento, as TOPOII detectam a presença dos TOPccs e se interagem pelo domínio de ligação ao DNA. A seguir, na fase de clivagem, a TOPOII cliva uma das fitas de DNA em cada cruzamento de fitas de topo e gera uma quebra no DNA (LOPEZ-MOSQUEDA et al., 2016). Durante

a passagem, a enzima passa uma segunda fita de DNA através da quebra e cria uma passagem por cima ou por baixo da fita clivada, o que permite o desenrolamento dos cruzamentos de fitas de topo. Após a passagem, a TOPOII religa a fita de DNA clivada e restaura a continuidade do DNA (BORGERMANN, et al., 2019). Os mecanismos de clivagem, passagem e religação são os mesmos mostrados na Figura 1.

Esses processos de clivagem, passagem e religação permitem a resolução dos TOPccs, pois separa as moléculas de DNA interconectadas e restabelece sua estrutura correta (BJORNSTI; KAUFMANN, 2019).

Além das TOPOII, outras proteínas e enzimas podem estar envolvidas no reconhecimento e resolução de TOPccs, como as helicases e nucleases, que podem auxiliar no desenrolamento e na clivagem (MÓROCZ et al., 2017).

Durante o processo da resolução do DNA desses complexos (TOPOIccs ou TOPOIIccs) pode ocorrer a eliminação incorreta de bases ou até mesmo quebras cromossômicas, e levar a mutações e subsequente instabilidade genômica. Esses eventos podem levar à formação de translocações cromossômicas, nas quais segmentos de cromossomos diferentes são trocados, frequentemente associados à leucemia mieloide aguda (LMA) (TUDURI et al., 2009).

As topoisomerases são alvos para medicamentos anticancerígenos e antibacterianos (HAFFNER et al., 2011). Agentes quimioterápicos como o etoposídeo e a doxorrubicina são inibidores das TOPOII, e são usados para tratar muitos tipos de câncer. A ciprofloxacina e outras quinolonas são antibióticos que inibem a topoisomerase bacteriana, e auxiliam no tratamento de infecções bacterianas (MINCHELL; KESZTHELYI; BAXTER, 2020).

Em termos de perspectivas futuras, o conhecimento mais aprofundado dos mecanismos moleculares que controlam

a atividade das topoisomerases e a interação dessas enzimas com fatores ambientais e terapias farmacológicas pode levar ao desenvolvimento de novos fármacos mais eficazes de modo que não ocorra a formação de complexos TOPIccs ou TOPIIccs estáveis e assim, evitar os efeitos tóxicos indesejados (MINCHELL; KESZTHELYI; BAXTER, 2020; CHAMPOUX, 2011).

3 TERAPIA MEDICAMENTOSA ANTI-CÂNCER TRADICIONAL E RESISTÊNCIA A MULTIDROGAS (MRD)

O câncer é uma doença complexa resultante de alterações genéticas e epigenéticas que levam à perda do controle da regulação do ciclo celular e resulta na produção de células anormais com capacidade de se dividir e proliferar de forma descontrolada. Essas podem invadir e destruir os tecidos saudáveis e levar ao desenvolvimento de tumores malignos (LEE; BERGER, 2019).

Consideram-se fatores ambientais como exposição a substâncias químicas presentes em alimentos, água e ar, além de produtos químicos empregados em fábricas ou em pesticidas utilizados em agricultura como os principais alavancadores da perda do homeostasia da epigenética e início do desenvolvimento dos diversos tipos de câncer (STRATTON et al., 2009). Fatores genéticos, como mutações, rearranjos, deleções, duplicações, inserções, erro de pareamento de bases e recombinação também podem desempenhar um papel importante no desencadeamento do câncer (STRATTON et al., 2009). Seu tratamento tem sido um desafio para a medicina moderna, uma vez que as opções são limitadas e geralmente envolve cirurgia, quimioterapia e radioterapia (FONTHAM, 2008).

Os medicamentos anticancerígenos tradicionais, disponíveis há mais de meio século, são classificados conforme seus mecanismos de ação em

antimetabólitos, agentes alquilantes, inibidores do fuso mitótico e inibidores das topoisomerases (KIKUCHI et al., 2019; JAFFE et al., 1973).

Os antimetabólitos interferem nos processos metabólicos das células cancerígenas e são subdivididas em análogos de nucleosídeos das pirimidinas (citossina arabinosídeo [Ara-C], enocitarabina [BHAC], gemcitabina); análogos de nucleotídeos das purinas (fludarabina, 6-mercaptopurina, nelarabina, clofarabina) e inibidores do ácido fólico (methotrexato) (YAMANISHI; NARAZAKI; ASANO, 2015; YAMAUCHI; UEDA, 2005). Os análogos de nucleosídeos de pirimidina, como a Ara-C, têm ação citotóxica ao interromper a síntese de DNA e RNA nas células cancerígenas. A Ara-C é convertida em seu nucleotídeo ativo e inibe a enzima DNA polimerase. Isso resulta na interrupção do processo de replicação e, conseqüentemente, na inibição do crescimento celular. No entanto, as células cancerígenas podem desenvolver mecanismos de resistência à citarabina, como a redução da captação do medicamento pelas células ou mutações nas enzimas que ativam o análogo de nucleosídeo (ASANO, 2020). Os equivalentes aos nucleotídeos purínicos, como a mercaptopurina (6-MP), são convertidos em nucleotídeos ativos que interferem na síntese de DNA e RNA e impedem o crescimento celular. Os mecanismos de resistência dessa classe podem envolver a ativação de enzimas que degradam esses medicamentos ou mutações nas enzimas-alvo, e torna as células menos sensíveis aos efeitos citotóxicos dos análogos (PETERS; ZIMMERMANN, 2018). O metotrexato, por sua vez, é um medicamento antiácido fólico que inibe a enzima dihidrofolato redutase, essencial para a síntese de nucleotídeos de purina e pirimidina. Com isso, o metotrexato interfere na síntese de DNA e RNA e inibe o crescimento celular (YAMAUCHI; UEDA, 2005).

Agentes alquilantes são a classe

de quimioterápicos atuantes na ligação de átomos de carbono nas bases nitrogenadas (melphalan, procarbazona e ciclofosfamida) (ZHU; KORTUUM; STEWART, 2013).

Os inibidores do fuso mitótico são uma classe de drogas que inibem a formação e função dos microtúbulos nas células. Dentre esses incluem-se vincristina, vinblastina, paclitaxel e docetaxel, entretanto a primeira é a mais conhecida (JAFFE et al., 1973). O mecanismo de ação da vincristina baseia-se na interação com os microtúbulos, estruturas fundamentais para a divisão celular e funcionamento adequado do citoesqueleto. Essas drogas se ligam aos microtúbulos em formação e impedem sua polimerização, ou seja, a montagem adequada dos filamentos de tubulina que compõem os microtúbulos. Isso resulta na desorganização e desestabilização dos microtúbulos e afeta processos vitais da célula, como a segregação cromossômica durante a divisão celular (ASANO, 2020) e interferência no transporte intracelular de vesículas e organelas (DI MARCO et al., 1973). A inibição dos microtúbulos pela vincristina interfere no ciclo celular na fase G2/M e induz a apoptose (morte celular programada). Essa droga tem seletividade preferencial por células em rápida divisão (células cancerígenas), mas também pode afetar células normais em processo de divisão (células da medula óssea) e resultar em efeitos colaterais hematológicos (ASANO, 2020).

O uso prolongado dos anticancerígenos pode levar ao desenvolvimento de resistência aos medicamentos (MDR, do inglês *multi-drug resistance*), pois as células cancerosas se adaptam ao tratamento e encontram formas de contornar os efeitos terapêuticos da droga. Dentre essas incluem-se aumento do metabolismo da droga, diminuição da absorção da droga pela célula e da expressão das moléculas-alvo, além de mutações das moléculas-alvo (MARCHI; O'CONNOR, 2012; JAFFE et al., 1973).

A resistência a medicamentos em terapias contra o câncer é um desafio significativo que afeta a eficácia dos tratamentos e a sobrevivência dos pacientes. A capacidade das células cancerígenas de desenvolver resistência aos medicamentos antineoplásicos é uma das principais causas de falha terapêutica no tratamento do câncer (ASANO, 2020).

A epigenética, mudanças reversíveis e hereditárias na expressão gênica sem alterações na sequência do DNA, emerge como um importante campo de estudo na compreensão da resistência a medicamentos. Essas alterações epigenéticas podem levar à ativação ou inativação anormal de genes envolvidos em vias celulares críticas, como apoptose, reparação do DNA e sinalização do crescimento celular (YAMANISHI; NARAZAKI; ASANO, 2015). Vários mecanismos epigenéticos estão envolvidos na resistência a medicamentos, incluindo modificações de histonas, metilação do DNA, remodelação da cromatina e expressão de microRNAs (ASANO, 2020).

As histonas desempenham um papel crucial no controle da expressão gênica, pois afetam a estrutura da cromatina e a acessibilidade das sequências reguladoras do DNA a ativadores e repressores da transcrição. A acetilação das histonas resulta em um aumento da expressão gênica, uma vez que relaxa a estrutura da cromatina, permitindo o acesso dos fatores de transcrição ao DNA (TSURUO, 1988).

A metilação aberrante do DNA desempenha um papel importante na tumorigênese, com hipometilação em todo o genoma e hipermetilação em regiões promotoras de genes supressores de tumor, características de muitos tipos de câncer. A metilação do DNA ocorre em sítios CpG, que são ricos em promotores de genes (ASANO, 2020).

Os mecanismos epigenéticos desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica e podem influenciar a resposta das células cancerí-

genas aos medicamentos antineoplásicos. A compreensão desses mecanismos pode abrir caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e à identificação de biomarcadores preditivos (YAMAUCHI; UEDA, 2005).

Os mecanismos pelos quais as células desenvolvem resistência aos medicamentos ainda não são totalmente compreendidos. Diversas vias de sinalização e genes que afetam a resposta das células cancerígenas à terapia têm sido identificadas e indica que a resistência adquirida não pode ser explicada por um único gene ou caminho (TSURUO, 1988).

Uma abordagem emergente para o tratamento do câncer é o tratamento direcionado, que se baseia na utilização de nanotecnologia para entregar drogas diretamente ao tumor e evitar a exposição de outras células saudáveis. Esta abordagem tem se mostrado promissora no tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o câncer de mama, cólon e próstata (CLARK et al., 2016; XU; HER, 2015).

4 NANOFÁRMACOS ANTICÂNCER

A nanotecnologia é o estudo e o uso de materiais em escala nanométrica e tem sido usada para desenvolver sistemas de liberação de fármacos. Uma das principais aplicações da nanotecnologia no tratamento do câncer é o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos direcionados. Esses sistemas podem utilizar nanopartículas para entregar fármacos diretamente às células cancerígenas e reduzir o efeito colateral nos tecidos saudáveis em comparação com o tratamento tradicional (CLARK et al., 2016).

O tamanho das nanopartículas e o seu *design* podem ser utilizados para controlar a taxa de liberação do fármaco, e assim evitar picos e quedas bruscas do seu nível no organismo. Dentre as

terapias direcionadas com a utilização da nanotecnologia, podem-se incluir as terapias de liberação (i) controlada, (ii) de nanocápsulas, (iii) de lipossomas e (iv) de microesfera. Esses sistemas podem fornecer doses precisas de fármacos direcionados ao local de ação, e assim aumentar a eficácia do tratamento e redução dos efeitos colaterais. A terapia de liberação controlada consiste na liberação de fármacos específicos diretamente no local onde o câncer está localizado. Esta liberação é controlada por meio de um dispositivo implantável que pode ser programado para liberar a medicação ao longo do tempo. A terapia de liberação de nanocápsulas corresponde à liberação de fármacos incluídos em nanocápsulas capazes de alcançar diretamente as células cancerígenas. As nanocápsulas são programadas para se desintegrarem no local da aplicação e liberarem a medicação diretamente no local do tumor. A terapia de liberação de lipossomas corresponde à liberação de fármacos encapsulados em lipossomas. Estes são pequenas estruturas esféricas formadas por lipídeos e água que são capazes de penetrar nas células cancerígenas e liberar a medicação diretamente no local do tumor. A terapia de liberação de microesferas consiste na liberação de fármacos encapsulados em microesferas, constituídas de materiais biocompatíveis naturais ou sintéticos. Essas são capazes de liberar de forma controlada a medicação diretamente no local do tumor (BOTELLA; RIVERO-BUCETA, 2017).

4.1 Nanofármacos inibidores das topoisomerases

Os inibidores das topoisomerases são fármacos que inibem a atividade das topoisomerases e são usados no tratamento do câncer, pois são capazes de inibir o crescimento e a proliferação de células cancerígenas. Se ligam à enzima e formam uma ligação covalente entre a Y do sítio ativo e um dos nucleotídeos do

DNA. Isso impede que as topoisomerases realizem sua função, a replicação e transcrição (RAO, 2013).

Estudos têm demonstrado que as topoisomerases TOPOIB e TOPOIIA são os alvos mais promissores para produção de medicamentos anticâncer para impossibilitar a proliferação celular (DELGADO et al., 2018).

A inibição da TOPOI impede a formação de novas ligações entre as duas fitas de DNA e subsequente inibição da replicação do DNA. Algumas drogas antineoplásicas são mais eficazes contra as TOPOI e TOPOII, enquanto outras são mais eficazes contra a TOPIV (DNA girase bacteriana). Algumas drogas, como a etoposídea, são capazes de inibir as três topoisomerases. Esses mecanismos de ação permitem que as drogas anti-topoisomerases sejam usadas para o tratamento antineoplásico por levar à redução do tamanho dos tumores e à regressão do câncer (THOMAS; POMMIER, 2019). Os inibidores da topoisomerase podem ser usados sozinhos ou em combinação com outras drogas para o tratamento do câncer (ASANO, 2020).

Alguns exemplos de inibidores das topoisomerases são camptotecina, etoposídea, teniposídea, doxorrubicina, mitomicina C, amsacrina, entre outros. Estes fármacos são usados no tratamento de vários tipos de câncer, como de mama, pulmão, ovário, leucemia, entre outros. Os efeitos colaterais mais comuns associados ao uso destes fármacos incluem náuseas, vômitos, diarreia, perda de cabelo, anemia e hemorragia. Por isso, é importante que os pacientes sejam frequentemente acompanhados por um médico durante o tratamento (PENDLETON, 2014).

O mecanismo de ação das drogas antineoplásicas sobre as topoisomerases é inibir a formação de novas ligações entre as duas fitas de DNA, interromper a replicação do DNA, inibir a recombinação do DNA e impedir a deslocação de

fragmentos de DNA ao redor do eixo do DNA durante a replicação. Estes mecanismos ajudam a prevenir a proliferação de novas células cancerígenas e a matar as células já existentes (ASANO, 2020; WU et al., 2014).

5 PERSPECTIVAS DO TRATAMENTO DIRECIONADO COM NANOPARTÍCULAS

O tratamento do câncer direcionado tem sido um desenvolvimento significativo na medicina moderna. Esta abordagem permite que as drogas sejam entregues diretamente ao tumor com redução significativa dos efeitos colaterais. Esta abordagem também permite que as doses sejam mais altas, o que aumenta a eficácia do tratamento. Além disso, a nanotecnologia também permite que outros fármacos, como agentes imunoterapêuticos, sejam entregues diretamente ao tumor (ASANO, 2020).

A utilização de nanopartículas também permite que se obtenha informações mais precisas sobre o local e o tamanho do tumor, assim possibilita a aplicação de um tratamento personalizado e mais eficaz (BAGULEY et al., 2021).

A perspectiva do tratamento direcionado do câncer é promissor para diferentes tipos de câncer, pois se baseia na compreensão crescente da biologia do câncer e no uso de medicamentos direcionados às células cancerígenas específicas, enquanto deixa as células saudáveis intactas (BAGULEY et al., 2021). No entanto, apresentam alto custo quando comparado a medicamentos convencionais, além de que a terapia direcionada pode necessitar de associação com radioterapia e/ou quimioterapia, e aumentar ainda mais o custo financeiro (KIKUCHI et al., 2019).

Sabe-se que as chances de cura com o tratamento direcionado dependem de vários fatores, como tipo exato de câncer, estágio e localização do tumor, saúde geral do paciente e a

resposta ao tratamento. Em outras palavras, pode aumentar as chances de cura, mas é importante levar em consideração que cada caso é único e que os resultados variam. Embora não exista garantia de cura, o tratamento pode ajudar a prevenir, controlar e retardar a progressão da doença, além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Os resultados para muitos pacientes com câncer têm sido melhores, e os avanços na tecnologia e na medicina ajudam a garantir o sucesso do tratamento (BAGULEY et al., 2021).

A combinação de inibidores da topoisomerase aliada à nanotecnologia para tratamento direcionado do câncer é promissor, pois essa droga pode ser direcionada para alvos específicos, como células cancerígenas, de forma mais precisa do que os tratamentos tradicionais. Ou seja, tem o potencial de oferecer um tratamento mais eficaz e menos tóxico (JAIN; MAJUMDER; ROYCHOU-DHURY, 2017).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As topoisomerases têm papel importante no controle do ciclo celular devido ao controle da estrutura da cromatina, desempenhando um papel fundamental no metabolismo do DNA. Se ligam às moléculas de DNA e catalisam a abertura de laços de cadeia, permitindo a realização de várias atividades nucleares, como a replicação, recombinação, transição de fase, transcrição e recombinação.

Os inibidores das topoisomerases são medicamentos anticâncer usados para tratar vários tipos de câncer. Estes medicamentos bloqueiam as enzimas topoisomerases, subsequentemente, o progresso do câncer. Portanto, estudos sobre topoisomerases e seus inibidores conjuntamente com a nanotecnologia têm grande relevância para a indústria farmacêutica, pois podem ser aplicados no desenvolvimento de novas terapias

de câncer, que melhoram a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

ASANO, T. Drug Resistance in Cancer Therapy and the Role of Epigenetics. *J Nippon Med Sch.* v. 14, n. 5, p. 244-251, 2020. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2020_87-508.

BAGULEY, B. C. et al. DNA-Binding Anticancer Drugs: One Target, Two Actions. *Molecules*, v. 26, p. 552, 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26030552>.

BARANELLO, L. et al. RNA polymerase II regulates topoisomerase 1 activity to favor efficient transcription. *Cell.*, v. 165, p. 357-371, 2016. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.036.

BIZARD, A. H.; HICKSON, I. D. As muitas vidas das topoisomerasas tipo IA. *J. Biol. Chem.* v. 295, p. 7138-7153, 2020. doi: 10.1074/jbc.REV120.008286.

BJORNSTI, M. A.; KAUFMANN, S. H. Topoisomerasas and cancer chemotherapy: recent advances and unanswered questions. *F1000Res.* 8:F1000 Faculty Rev-1704. set. 2019. doi: 10.12688/f1000research.20201.1.

BORGERMANN, N. et al. SUMOylation promotes protective responses to DNA-protein crosslinks. *The EMBO Journal*, v. 38, n. 8, p. e101496, 2019.

BOTELLA, P.; RIVERO-BUCETA, E. Safe approaches for camptothecin delivery: Structural analogues and nanomedicines, *Journal of Controlled Release*, v. 247, p. 28-54, 2017. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.12.023.

BOTTINO, S. M. B.; FRÁGUAS, R.; GATTAZ, W. F. Depressão e câncer. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*,

v. 36, supl. 3, 2009. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-60832009000900007>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Glossário temático: controle de câncer / Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. Subsecretaria de Assuntos Administrativos; Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BUKOWSKI, K.; KCIUK, M.; KONTEK, R. Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *Int J Mol Sci.* v. 21, n. 9, p. 3233, 2020. doi:10.3390/ijms21093233.

CAPRANICO, G., MARINELLO, J., CHILLEMI, G. Type I DNA topoisomerasas. *J. Med. Chem.* v. 60, n. 6, p. 2169-2192, 2017. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00966.

CHAMPOUX, J. J. DNA topoisomerasas: estrutura, função e mecanismo. *Annu. Rev. Biochem.* 2001; 70 :369–413. doi:10.1146/annurev.biochem.70.1.369

CLARK, A. J. et al. CRLX101 nanoparticles localize in human tumors and not in adjacent, nonneoplastic tissue after intravenous dosing, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 113, p. 3850-3854, 2016.

DELGADO, J. L. et al. Topoisomerasas as anticancer targets. *Biochem J.*, v. 475, n. 4, p. 373-398, jan. 2018. doi: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160583>.

DI MARCO, A., CASAZZA, A. M., DASILVA, T., et al. Cytotoxic, antiviral, and antitumor activity of some derivatives of daunomycin (NSC-82151). *Cancer Chemother Rep.*, v. 57, p. 269-274.

FONTHAM, E. T. *Cancer Epidemiology and Prevention*. Third Edition Edited by David Schottenfeld and Joseph F.

Fraumeni, Jr. American Journal of Epidemiology, v. 168, p. 469-469, 2008.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. JAMA Oncol., v. 5, n. 12, p. 1749-1768, 2019. doi:10.1001/jamaoncol.2019.2996.

HAFFNER, M. C, et al. Transcription-induced DNA double strandbreaks: both oncogenic force and potential therapeutic target? Clin. Cancer Res., v. 17, p. 3858-3864, 2011. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2044.

HEDAYATI, M. et al. Androgen deprivation followed by acute androgen stimulation selectively sensitizes AR-positive prostate cancer cells to ionizing radiation. Clin. Cancer Res. v. 22, p. 3310-3319, 2016. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1147

HO, J. S. Y. et al. TOP1 inhibition therapy protects against SARS-CoV-2-induced lethal inflammation. Cell. v. 184, p. 2618-2632.e17, 2021. doi: 10.1016/j.cell.2021.03.051.

INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2022.

JAFFE, N. et al. Favorable response of metastatic osteogenic sarcoma to pulse high-dose methotrexate with citrovorum rescue and radiation therapy. Cancer. v. 31, p. 1367-1373, 1973.

JAIN, K. C.; MAJUMDER, K. H.; ROYCHOUDHURY, S. Natural compounds as anticancer agents targeting DNA topoisomerases, Current

Genomics, v. 18, n. 1, p. 75-92, 2017. doi: <https://dx.doi.org/10.2174/138920291766160808125213>.

JIANG, W., et al. Disfunção mitocondrial celular predominante no distúrbio semelhante à síndrome de Bloom causado pelo gene TOP3A. Biochim. Biophys. Acta., v. 1867, p. 166106, 2021. doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166106.

KIKUCHI, H. et al. Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. Am. J. Cancer Res., v. 9, p. 1517-1535, 2019.

KOUZINE, F.; LEVENS, D.; BARANELLO, L. DNA topology and transcription. Nucleus., v. 5, p. 195-202, 2014. doi: 10.4161/nucl.28909.

LEE, J. H.; BERGER, J. M. Cell Cycle-Dependent and Control Roles of DNA Topoisomerase II. Genes (Basel), v. 10, n. 11, p. 859, 2019. doi:10.3390/genes10110859. Acesso em 25 de abril de 2023.

LOPEZ-MOSQUEDA, J., MADDI, K., PRGOMET, S. SPRTN is a mammalian DNA-binding metalloprotease that resolves DNA-protein crosslinks eLife 2016.5:e21491. Disponível em: <<https://doi.org/10.7554/eLife.21491>>. Acesso em: 15 maio 2023.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6ª ed., Ed. Artmed LTDA, 2014.

NICHOLLS, T. J. et al. Topoisomerase 3α is required for decatenation and segregation of human mtDNA. Mol Cell. v. 69, n. 1, p. 9-23.e6, jan. 2018. doi: 10.1016/j.molcel.2017.11.033.

NITISS, J. L. Targeting DNA

topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat. Ver. Cancer.* v. 9, p. 338-350, 2009. doi:10.1038/nrc2607.

NUSSBAUMER, S. et al. Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, v. 85, p. 2265-2289, 2011.

MARCHI, E.; O'CONNOR, O. A. Safety and efficacy of pralatrexate in the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Ther. Adv. Hematol.*, v. 3, p. 227-235, 2012.

MINCHELL, N. E., KESZTHELYI, A., BAXTER, J. Cohesin causes replicative DNA damage by trapping DNA topological stress. *Mol. Cell.* v. 78, p. 739-751.e8, 2020. doi: 10.1016/j.molcel.2020.03.013.

MÓROCZ, M. et al. DNA-dependent protease activity of human Spartan facilitates replication of DNA-protein crosslink-containing DNA. *Nucleic Acids Research*, v. 45, n. 6, p. 3172-3188, abr. 2017. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1315>.

PENDLETON, M. et al. Topoisomerase II and leukemia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v. 1310, p. 98-110, 2014. doi: <https://doi.org/10.1111/nyas.12358>.

PETERS, S., ZIMMERMANN, S. Management of resistance to first-line anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitor therapy. *Curr Treat Options Oncol*, v. 19, n. 7, p. 37, maio 2018. doi: 10.1007/s11864-018-0553-x.

POMMIER, Y., et al. Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability. *Nat Rev Mol Cell Biol.* v. 17, n. 11, p. 703-721, nov. 2016 doi:10.1038/nrm.2016.111.

POMMIER, Y. et al. Human topoisomerases and their roles in genome stability and organization. *Nat. Ver. Mol. Cell Biol.*, v. 23, p. 407-427, 2022. doi:

<https://doi.org/10.1038/s41580-022-00452-3>.

RACKO, D. et al. Transcription-induced supercoiling as the driving force of chromatin loop extrusion during formation of TADs in interphase chromosomes. *Nucleic Acids Res.*, v. 46, p. 1648-1660, 2018. doi: 10.1093/nar/gkx1123.

RAO, A. Iron chelators with topoisomerase-inhibitory activity and their anticancer applications. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 10, n. 8, p. 930-955, 2013. doi: <http://doi.org/10.1089/ars.2012.4877>.

SAHA, S. et al. DNA and RNA Cleavage Complexes and Repair Pathway for TOP3B RNA- and DNA-Protein Crosslinks. *Cell Rep.*, v. 33, n. 13, p. 108569, dez. 2020. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108569.

SCHALBETTER, S. A. et al. Fork rotation and DNA precatenation are restricted during DNA replication to prevent chromosomal instability. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*, v. 112, p. E4565-4570, 2015. doi: 10.1073/pnas.1505356112.

STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. *Nature*, v. 458, n. 7239, p. 719-724, 2009.

THOMAS, A.; POMMIER, Y. Targeting topoisomerase I in the era of precision medicine. *Clin. Cancer Res.*, v. 25, n. 22, p. 6581-6589, nov. 2019. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1089.

TUDURI, S., et al. Topoisomerase I suppresses genomic instability by preventing interference between replication and transcription. *Nat. Cell Biol.* v. 11, p. 1315-1324, 2009. doi: 10.1038/ncb1984.

TSURUO, T. Mechanisms of multidrug resistance and implications for therapy.

Jpn. J. Cancer Res. v. 79, p. 285-296, 1988.

VANN, K. R.; OVIATT, A. A.; OSHEROFF, N. Topoisomerase II Poisons: Converting Essential Enzymes into Molecular Scissors. *Biochemistry*, v. 60, n. 21, p. 1630-1641, 2021. doi: 10.1021/acs.biochem.1c00240.

VAZ, B. et al. Metalloprotease SPRTN/DVC1 Orchestrates Replication-Coupled DNA-Protein Crosslink Repair, *Molecular Cell*, v. 64, n. 4, p. 704-719, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.09.032>.

WANG, X.; ZHANG, H.; CHEN, X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resist.*, v. 2, p. 141-160, 2019.

WU, Q. et al. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: Mechanisms and lab approaches. *Cancer Lett.*, v. 347, p. 159-166, 2014.

YAMANISHI, M., NARAZAKI, H., ASANO T. Melatonin overcomes resistance to clofarabine in two leukemic cell

lines by increased expression of deoxycytidine kinase. *Exp Hematol.* v. 43, p. 207-214, 2015.

YAMAUCHI, A. et al. Overexpression of constitutive signal transducer and activator of transcription 3 mRNA in cisplatin-resistant human non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep.*, v. 13, p. 217-222, 2005.

YANG, W. Topoisomerases e recombinases específicas do local: semelhanças na estrutura e mecanismo. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* v. 45, p. 520-534, 2010. doi: 10.3109/10409238.2010.513375.

XU, Y.; HER, C. Inhibition of topoisomerase (DNA) I (TOP1): DNA damage repair and anticancer therapy. *Biomolecules*, v. 5, p. 1652-1670, 2015. doi: <https://doi.org/10.3390/biom5031652>.

ZHU, Y. X.; KORTUEM, K. M.; STEWART, K. Molecular mechanism of action of immune-modulatory drugs thalidomide, lenalidomide and pomalidomide in multiple myeloma, *Leukemia & Lymphoma*, v. 54, n. 4, p. 683-687, 2013. doi: 10.3109/10428194.2012.728597.