

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Glaucia Rodrigues

**CÂNCER DE MAMA: ASPECTOS GENÉTICOS
E MECANISMOS EPIGENÉTICOS**

São Paulo
2017

Glaucia Rodrigues

**CÂNCER DE MAMA: ASPECTOS GENÉTICOS
E MECANISMOS EPIGENÉTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Prof^a Dra. Luciana Pugliese da Silva, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Rodrigues, Glaucia

Câncer de mama: aspectos genéticos e mecanismo epigenéticos /
Glaucia Rodrigues. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2017.
71 p.

Orientação de Luciana Pugliese da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro
Universitário São Camilo, 2017.

1. Fenótipo 2. Genes 3. Imuno-Histoquímica 4. Metilação de DNA 5.
MicroRNAs 6. Neoplasias da mama 7. Proteínas I. Silva, Luciana Pugliese
da II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 573.21

Glaucia Rodrigues

**CÂNCER DE MAMA: ASPECTOS GENÉTICOS
E MECANISMOS EPIGENÉTICOS**

São Paulo, 14 de novembro de 2017.

Professora Orientadora Dra. Luciana Pugliese da Silva.

Professora Examinadora Dra. Sandra Castro Poppe.

*Dedico este trabalho à todas mulheres que vivenciaram e vivenciam
o câncer de mama.*

Agradecimentos

Aos meus pais, Irene Regina da Silva Rodrigues e Paulo Rodrigues, pelo amor, pela confiança e pela ajuda, pois sem eles esta caminhada não seria possível. À minha irmã, Gabriela Rodrigues, pela amizade.

Agradeço aos meus professores do Centro Universitário São Camilo, por terem compartilhado seus conhecimentos e por terem demonstrado dedicação e carinho a nós, seus alunos.

Agradeço especialmente a Professora Doutora Luciana Pugliese da Silva, por ter sido uma grande companheira não somente neste trabalho como durante estes 4 anos de graduação. A sua conduta profissional é exemplar.

Agradeço ao meu namorado, Felipe de Lima Ambrogi, por ter me ajudado a entrar neste Centro Universitário, por ter me incentivado a continuar em momentos difíceis, por todos os dias que temos vivido juntos! Obrigada por tudo!

Às minhas amigas futuras biomédicas, companheiras de estudos, que compreendem o significado de ser camiliana e que irão apresentar seus TCC`s com grande maestria, sinto orgulho de vocês!

Agradeço aos amigos e familiares que de alguma forma me ajudaram neste período de construção de conhecimento.

RODRIGUES, Glaucia. **Câncer De Mama: Aspectos Genéticos e Mecanismos Epigenéticos**. 2017. 73f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Biomedicina) - Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

O câncer de mama é o câncer que mais acomete as mulheres no mundo. A maior parte das pacientes com câncer de mama possui idade acima de 50 anos, porém as mulheres mais novas desenvolvem a forma mais agressiva da neoplasia, sendo frequentemente encontradas mutações nos genes BRCA1 e/ou BRCA2. Existe uma classificação histológica e molecular, pois trata-se de uma doença heterogênea. A classificação molecular guia uma conduta terapêutica mais adequada e para isto é necessário compreender as mudanças genéticas e epigenéticas do DNA. Utilizando bases de dados acerca dos aspectos genéticos e epigenéticos que envolvem o câncer de mama, verificou-se que as mutações patogênicas nos genes supressores tumorais como BRCA1 e BRCA2, geram proteínas cujas funções ficam comprometidas, e estes genes mutados estão presentes nos cânceres de mama hereditários. No entanto, os mecanismos epigenéticos estão presentes nos cânceres de mama esporádicos. Os RNA não codificantes estão relacionados com processo de proliferação celular e metástases, assim como a superexpressão de enzimas que regulam o nível de compactação do DNA. O conhecimento dos mecanismos genéticos e epigenéticos relacionados ao câncer de mama contribui com uma melhor compreensão da doença, maior especificidade no diagnóstico, tratamentos mais adequados e, conseqüentemente, melhor prognóstico.

Palavras-chave: Fenótipo, Genes, Imuno-Histoquímica, Metilação de DNA, MicroRNAs, Neoplasias da mama e Proteínas.

RODRIGUES, Glaucia. **Breast Cancer: Genetics aspects and Epigenetic mechanisms**. 2017. 73f. Term paper (Bachelor's degree in Biomedicine) - Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

The breast cancer is the most common cancer that strikes women in the world. The major part of the patients with breast cancer are above 50 years old, although, younger women develops the most aggressive form of the breast cancer, with frequently found mutations on the genes BRCA1 and /or BRCA2. There is a histological and molecular classification for these, since it's a heterogenic disease. The molecular assortment guides a more adequate therapeutic behavior, and for doing so, it's necessary to understand the genetic and epigenetic changes of the DNA. Utilizing data bases through the genetic and epigenetic aspects that surround the breast cancer, it's was noticed that the pathogenic mutations on the tumor suppressing genes as the BRCA1 and BRCA2, generates proteins with compromised functions and that these mutated genes are present in the hereditary breast cancers. However, the epigenetic mechanisms are present in the sporadic breast cancers. The non-codifying RNAs are related to metastasis and cell proliferation processes, just as the super-expression of enzymes that regulate the DNA's compaction levels. Knowledge of the genetic and epigenetic mechanisms related to breast cancer contributes to a better understanding of the disease, a greater specificity in the diagnosis, more adequate treatments and, consequently, a better prognosis.

Keywords: Phenotype, Genes, Immunohistochemistry, DNA Methylation, MicroRNAs, Breast Neoplasms and Proteins.

Lista de gráficos, quadros e tabela

Gráfico 1 - Estimativa de incidência de novos casos em mulheres de todas idades no mundo, 2012	18
Gráfico 2 - Estimativa de mortes causadas por câncer em mulheres de todas as idades, no mundo, 2012.....	19
Tabela 1 - Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 no Brasil, exceto pele não melanoma.....	20
Quadro 1 – Subtipos clínico patológicos e suas características.....	25
Quadro 2 – Lista de miRNA e lncRNA vinculados ao câncer de mama	46
Gráfico 3 – Análise do nível de metilação do gene Reprimo em tecido normal, tumor e cultura de células	52

Lista de Figuras

Figura 1 - Representação das taxas brutas de incidência de neoplasia maligna da mama feminina por 100 mil mulheres, estimativa de 2016.....	20
Figura 2 - Diferentes fases de remodelação durante o desenvolvimento da glândula mamária e ducto mamário.....	22
Figura 3 - Sequência da proliferação do câncer de mama.....	23
Figura 4 - Representação esquemática do receptor de estrógeno α e β com seus domínios estruturais e funcionais.....	27
Figura 5 – Mecanismo de ação dos hormônios esteroidais	28
Figura 6 - Representação esquemática das isoformas A e B do receptor de progesterona com seus domínios estruturais e funcionais.....	30
Figura 7 - Dimerização de receptores ERBB. ERBB3 ativando ERBB2.....	31
Figura 8- Classificação do câncer de mama por método de imunistoquímica....	33
Figura 9 - Hallmarks do câncer	35
Figura 10 - Esquema da proteína BRCA1 com seus domínios e proteínas de interação	37
Figura 11 - Mecanismo molecular	38
Figura 12 - Esquema da proteína BRCA2 com seus domínios e proteínas de interação	39
Figura 13 - Esquema da proteína p53 com seus domínios.....	42
Figura 14 – Mecanismos ativadores da proteína p53 e suas atividades supressoras tumorais	43
Figura 15 - Regulação da atividade transcricional por modificações das histonas	47

Figura 16 – Imunoistoquímica para HDAC1 e HDAC2 em fibroadenomas e câncer de mama esporádico.....	48
Figura 17 – Representação esquemática da metilação do DNA em células normais e tumorais.....	49
Figura 18 – Reação de adição do grupo metil à citosina, catalisada por enzima DNMT.....	50

Lista de Abreviaturas e Siglas

5-mC	5-metilcitosina
a.a.	Aminoácidos
AF-1, AF-2, AF-3	Domínios de transativação
ATM	Ataxia-telangiectasia mutada
BIC	Breast Cancer Information Core database
BRCA1	Gene do câncer de mama 1
BRCA2	Gene do câncer de mama 2
CDK	Quinase dependente de ciclina
CDK2	Quinase dependente de ciclina depende 2
CH ₃	Metil, grupo
CLIS	Carcinoma lobular <i>in situ</i>
C-terminal	Extremidade carboxi-terminal
DBD	Domínio de ligação ao DNA ou DNA binding domain
DIM	Sequências importantes para a dimerização do receptor
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMTs	DNA metiltransferases
Domínio BRCTs	BRCA C Terminal
Domínio RING	Dedo de zinco
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EMT	Transição epitelial para mesenquimal
ER	Receptor de estrógeno

ERE	Elementos responsivos aos hormônios esteroides
ER α	Receptor de estrógeno isoforma α
ER β	Receptor de estrógeno isoforma β
FDA	Food and Drug Administration - órgão norte americano
FISH	Hibridização fluorescente <i>in situ</i>
FSH	Hormônio folículo-estimulante
G0	Células em repouso
H	Hormônio esteroide
HAT	Histonas acetiltransferases
HDAC	Histonas desacetilases
HER2	Receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2
HMT	Histonas metiltransferases
H-R	Recombinação homóloga
ID	Domínio inibitório
IQ	Imunoistoquímica
INCA	Instituto Nacional de Câncer
kDa	Quilodaltos
LBD	Domínio de ligação ao ligante
LCC	Lesões de células colunares
LH	Hormônio luteinizante
MBD	Proteínas de ligação à metilcitosina
miRNA	microRNAs
mRNA	RNA mensageiro

ncRNA	RNAs não codificantes
NES	Sinal de exportação nuclear
NHEJ	Junção de extremidades não homólogas
NLS	Sinal de localização nuclear
NT	Nucleotídeo
N-terminal	Extremidade amino-terminal
OB	Ligação de oligonucleotídeo
Oncotype DX®	Ensaio de Câncer de Mama Oncotype DX
PR	Receptor de progesterona
PR-A	Receptor de progesterona isoforma A
PR-B	Receptor de progesterona isoforma B
R	Receptor específico
SH3	Domínio Src homology 3-like
SSA	Anelamento de fita simples
TEBs	Terminal end buds
TP53	Tumor protein53
UDLTs	Unidades ducto lobulares terminais
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
VUS	Variação de significado incerto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 METODOLOGIA.....	17
4 DESENVOLVIMENTO	18
4.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER NO MUNDO.....	18
4.2 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER NO BRASIL	19
4.3 A GLÂNDULA MAMÁRIA	21
4.4 DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE MAMA	23
4.5 CLASSIFICAÇÃO DO CÂNCER DE MAMA.....	24
4.6 MARCADORES MOLECULARES.....	26
4.6.1 RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ER)	26
4.6.2 RECEPTOR DE PROGESTERONA (PR)	29
4.6.3 RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO HUMANO 2 (HER2)	30
4.6.4 ANTÍGENO Ki-67	32
4.7 ASSINATURAS GÊNICAS	33
4.8 INSTABILIDADE GENÔMICA E MUTAÇÃO.....	34
4.8.1 GENÉTICA.....	36
4.8.1.1 GENES BRCA1, BRCA2 E SUAS RESPECTIVAS PROTEÍNAS	36
4.8.1.1.1 MUTAÇÕES NOS GENES BRCA1 E BRCA2.....	39
4.8.1.2 GENE TP53 E PROTEÍNA p53.....	41
4.8.1.2.1 MUTAÇÃO E POLIMORFISMO NO GENE TP53	43
4.8.2 EPIGENÉTICA	44
4.8.2.1 RNAs NÃO CODIFICANTES (ncRNA)	45
4.8.2.2 MODIFICAÇÃO DE HISTONAS.....	46
4.8.2.3 METILAÇÃO DO DNA.....	49
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
REFERÊNCIAS.....	55
ANEXO A – Classificação histológica do câncer de mama.....	66

1 INTRODUÇÃO

O câncer é considerado um problema de saúde pública no mundo. A estimativa de 2012 era de 14 milhões de novos casos e 8 milhões de mortes, sendo que mais de 60% dos novos casos são verificados em países da África, Ásia e América Latina (WHO, 2014).

No Brasil, desconsiderando o câncer de pele não melanoma, o câncer de mama é a neoplasia que mais acomete as mulheres, com exceção a região norte onde o câncer de mama é o segundo tumor mais incidente. Em 2016 eram esperados 57.960 casos novos de câncer de mama para o Brasil, uma média de 56 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2015).

O câncer de mama é uma doença complexa, que envolve fatores relacionados a idade da menarca, uso de anticoncepcional, lactação, abortos, idade da menopausa, terapia de reposição hormonal, idade avançada, fatores do estilo de vida (dieta, consumo de álcool e cigarros), fatores ambientais como exposição à radiação ionizante, histórico familiar de câncer (CESAR et al., 2012).

A classificação histológica do câncer de mama considera o grau, o tamanho do tumor, o envolvimento de linfonodos e metástases. A classificação molecular considera o receptor de progesterona (PR), o receptor de estrógeno (ER), o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) e antígeno Ki-67 (DE ABREU et al., 2014).

A classificação molecular do câncer de mama considera os seguintes subtipos: luminal A, luminal B, superexpressão de HER2 e triplo negativos. A maior parte dos casos de câncer de mama é representado pelos subtipos luminal A e luminal B, sendo respectivamente 70% e 12% dos casos, esses possuem um bom prognóstico pois trata-se de tumores diferenciados que respondem a terapia endócrina (BUCHEGGER et al., 2017).

O subtipo superexpressão de HER2 corresponde a 15-20% do total de câncer de mama e está associado a um fenótipo mais agressivo. O subtipo basal-like e claudin-low são triplos negativos e representam cerca de 10-20% e 12-14% respectivamente, e são mais agressivos e de mau prognóstico. Associado ao

exame de imunohistoquímica, há também os testes que avaliam o perfil genético, chamados de assinaturas gênicas (DE ABREU et al., 2014).

As assinaturas gênicas que estão liberadas para rotina clínica pelo FDA (Food and Drug Administration - órgão norte americano) são: MammaPrint® e o Oncotype DX®. O MammaPrint® analisa 70 genes por meio de micro arranjo gênico e o Oncotype DX® é o mais utilizado e verifica 21 genes por meio de reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa em tempo real (DELMONICO; ALVES; AMARAL, 2015).

Os genes BRCA1 e BRCA2 são genes supressores de tumores que codificam proteínas que auxiliam no processo de reparo do DNA. Mutações no gene BRCA1 estão associados ao subtipo triplo negativo (YOUNG et al., 2009). Gomes (2011) e Figueiredo (2014) encontraram em suas pesquisas maior quantidade de mutações nos genes BRCA1 do que no gene BRCA2.

O gene TP53 é um gene supressor de tumor pois codifica uma proteína que está relacionada com regulação do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose. Considerando-se todos os cânceres de mama o gene TP53 encontra-se mutado em torno de 32% dos tumores, principalmente nos subtipos triplo negativos e superexpressão de HER2 (BAIRD; CALDAS, 2013).

A epigenética trata de alterações na expressão gênica por meio de mecanismos como modificações na expressão de RNAs não codificantes (ncRNAs), modificações de histonas e na metilação de DNA. Estes mecanismos ocorrem fisiologicamente em vários momentos, o problema se instala quando as células perdem o controle destes mecanismos (TABY; ISSA, 2010).

O número de ncRNA está relacionado com a complexidade do organismo. Os ncRNAs podem ser divididos em pequenos RNA e longos RNA sendo os microRNAs (miRNA) os mais estudados no câncer de mama (TORDONATO et al., 2015).

As modificações nas histonas estão relacionadas com o nível de compactação do DNA, ocorrem através de enzimas específicas como as histonas desacetilases (HDAC) e as histonas acetiltransferases (HAT) (KLASSEN, 2016). A desacetilação de histonas é um processo reversível, assim inibidores de HDAC podem induzir a re-expressão de genes silenciados em tumores (ZHAO et al., 2016).

A metilação é processo de adicionar grupos metil ao DNA e ocorre frequentemente nos dinucleotídeos CpG por meio das DNA metiltransferases, portanto o aumento da atividade dessas enzimas leva a alterações na metilação do DNA. Em células normais, as ilhas CpG são metiladas esporadicamente para que a maquinaria de transcrição tenha acesso ao DNA. No câncer a hipermetilação de regiões promotores de genes supressores tumorais e a hipometilação global levam ao silenciamento gênico (LEWANDOWSKA; BARTOSZEK, 2011).

Os mecanismos epigenéticos são reversíveis e isso faz com que esses possam ser alvos terapêuticos. O tratamento do câncer com agentes desmetilantes pode reativar um grupo de genes que estavam silenciados e que muitas vezes são importantes para o controle da proliferação celular, diferenciação e apoptose (CASTRO, 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Compreender os principais aspectos genéticos e epigenéticos envolvidos no câncer de mama.

2.2 Objetivos específicos

Abordar a epidemiologia, a nova classificação do câncer de mama com base nos subtipos clínico-patológicos e correlacionar com os aspectos moleculares utilizados nesta classificação.

Compreender o mecanismo de atuação das proteínas BRCA1, BRCA2 e p53 bem como seus genes.

Descrever as alterações epigenéticas presentes nos cânceres de mama.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica, com pesquisa de dissertações de mestrado, teses de doutorado, livros e artigos científicos de revisão e experimentais, através de bases de dados eletrônicas como Scielo, Google Acadêmico e PubMed, nos idiomas português, espanhol e inglês, publicados no período entre 2004 e 2017, incluindo, quando necessário, referências de período anterior.

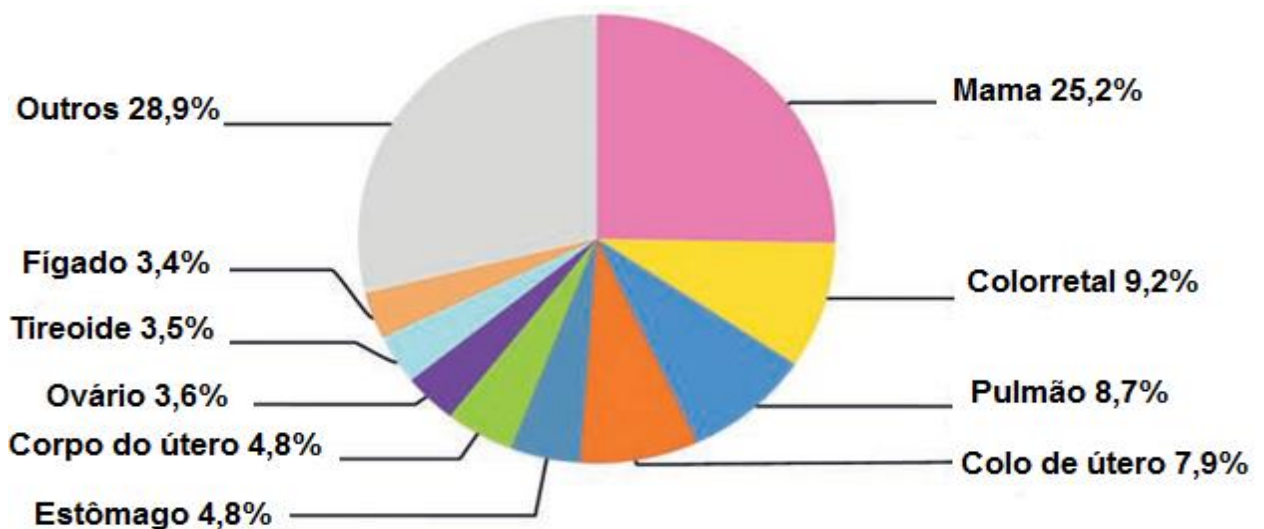
As palavras chave utilizadas foram: Câncer de mama, marcadores moleculares, assinaturas gênicas, gene BRCA1, gene BRCA2, gene TP53, proteína p53, epigenética, ncRNAs, modificação de histonas e metilação de DNA.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER NO MUNDO

O câncer é a maior causa de mortalidade no mundo. A estimativa anual é de 20 milhões de novos casos no mundo até 2025. O câncer de mama é o segundo câncer mais frequente no mundo. A estimativa de 2012 para novos casos de câncer entre as mulheres era de 25,2% do total de 6.663.001 milhões (Gráfico 1) (SERRA et al., 2014).

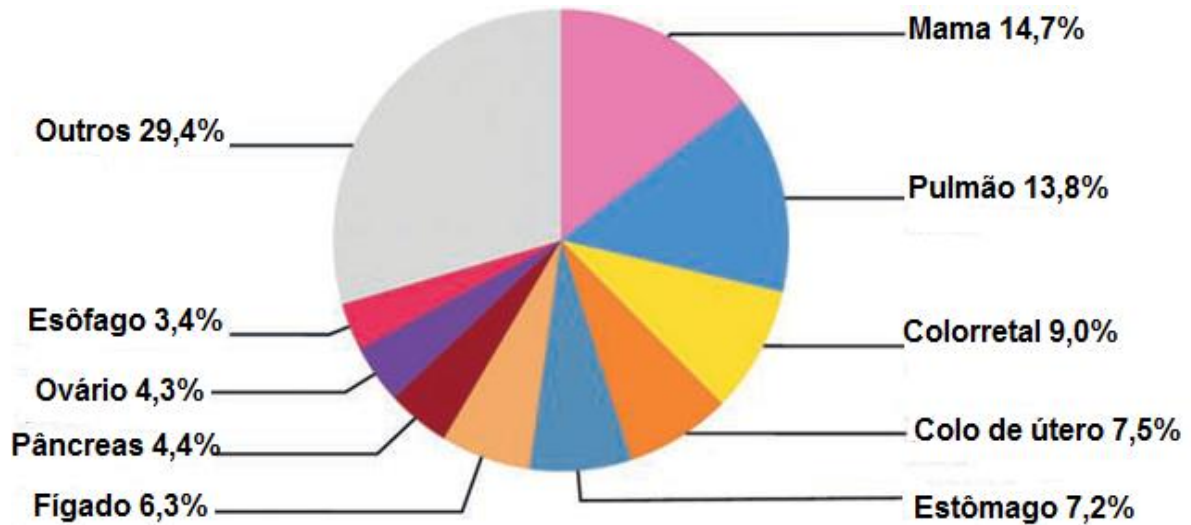
Gráfico 1 – Estimativa de incidência de novos casos de câncer em mulheres de todas idades no mundo, 2012.



Fonte: Adaptado de (WHO, 2014)

No Gráfico 2 verifica-se que o câncer de mama é responsável por causar 14,7% das mortes em mulheres com câncer do total de 3.547.898.

Gráfico 2 - Estimativa de mortes causadas por câncer em mulheres de todas as idades, no mundo, 2012.



Fonte: Adaptado de (WHO, 2014)


4.2 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER NO BRASIL

No Brasil a estimativa para o biênio 2016-2017 é de 600 mil novos casos de câncer, o câncer de pele não melanoma (180 mil casos novos) e 420 mil casos novos de câncer, o mais frequente entre os homens é o câncer de próstata e nas mulheres o câncer de mama (Tabela 1) segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2015).

O câncer de mama hereditário ocorre entre 5 e 10% de todos os casos de câncer de mama, geralmente afeta mulheres jovens e o câncer de mama esporádico representa 90% dos casos de câncer de mama, neste não há correlação com histórico familiar e afeta mulheres mais velhas (PAULA et al., 2012).

A incidência do câncer de mama no Brasil varia de acordo com regiões socioeconômicas, verifica-se que as taxas mais altas estão nas regiões Sul (74,3/100mil), Sudeste (68,0/100mil) e Centro Oeste (55,8/100mil). A região Nordeste (38,7/100mil) e Norte (22,2/100 mil) são as regiões com taxas menores (Figura 1) (INCA, 2015).

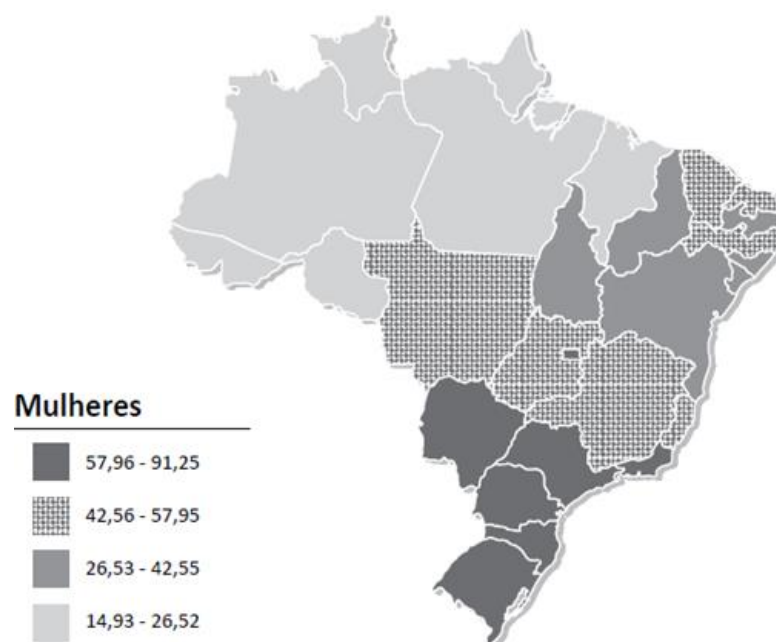
Tabela 1 - Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 no Brasil, exceto pele não melanoma.

	Localização Primária	Casos	%
Mulheres 	Mama feminina	57.960	28,1%
	Cólon e Reto	17.620	8,6%
	Colo do útero	16.340	7,9%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%
	Estômago	7.600	3,7%
	Corpo do útero	6.950	3,4%
	Ovário	6.150	3,0%
	Glândula Tireoide	5.870	2,9%
	Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%
	Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%

Fonte: Adaptado de (INCA, 2015)

Trata-se de uma doença de bom prognóstico, se diagnosticado e tratado, porém no Brasil a taxa de mortalidade por câncer de mama continua elevada, sendo 14 óbitos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2015).

Figura 1 - Representação das taxas brutas de incidência de neoplasia maligna da mama feminina por 100 mil mulheres, estimativa de 2016.



Fonte: (INCA, 2015)

4.3 A GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária normal é constituída por dois componentes: o epitélio, formado por membrana basal, células mioepiteliais e células epiteliais luminais, e o estroma conhecido como *fat pad* que é composto por fibroblastos, adipócitos, vasos sanguíneos, nervos e células do sistema imune (GJOREVSKI; NELSON, 2011).

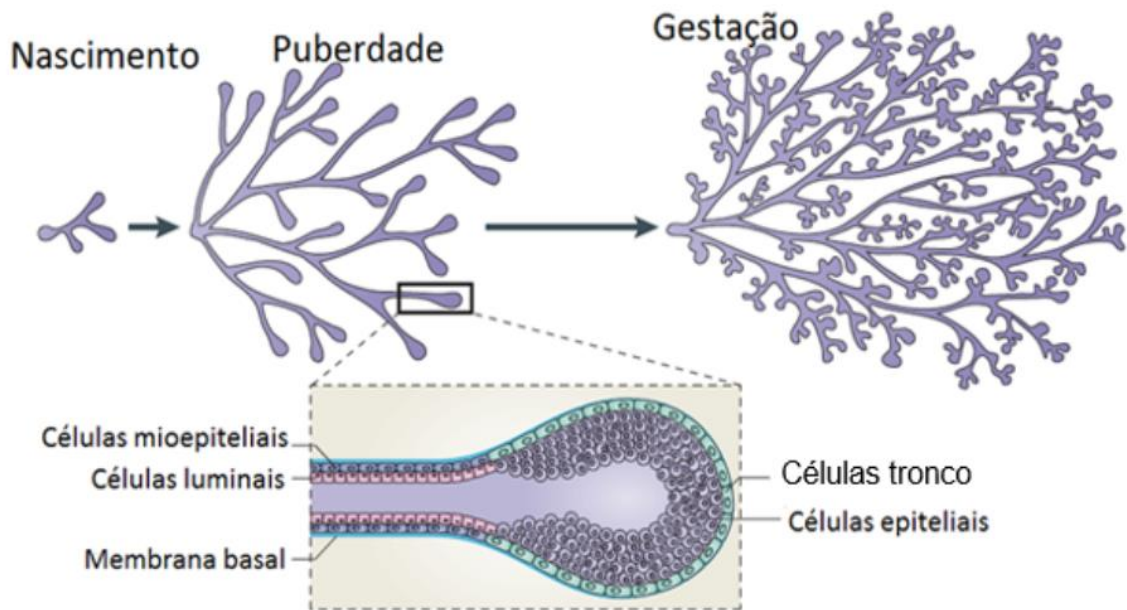
O epitélio luminal não entra em contato direto com a membrana basal, pois entre essas estruturas há as células mioepiteliais. As células mioepiteliais influenciam a diferenciação, a proliferação, a invasão e a migração das células epiteliais luminais. A membrana basal forma uma barreira física separando o epitélio do estroma (POLYAK, 2010).

A glândula mamária se desenvolve em três estágios, na fase embrionária, na puberdade e na vida adulta com a gestação e lactação, isso deve-se aos fatores de crescimento e aos hormônios (WATSON; KHALED, 2008).

No período embrionário ocorre a formação de pares de placoides na camada epitelial e que invaginam para o mesênquima subjacente dando origem aos brotos. Após o nascimento a estrutura rudimentar permanece em quiescência até a puberdade, onde sob influência hormonal haverá formação de estruturas chamadas unidades ducto lobulares terminais (UDLTs). Em roedores são denominados *terminal end buds* (TEBs) (GJOREVSKI; NELSON., 2011).

As TEBs são compostas por uma camada de células não diferenciadas (*stem cells*) e por uma camada interna de células epiteliais (Figura 2). Essas células possuem alta taxa de proliferação e são responsáveis pela alongação e bifurcação dos ductos (ROSIM, 2015).

Figura 2 - Diferentes fases de remodelação durante o desenvolvimento da glândula mamária e ducto mamário.



Fonte: Adaptado de (GJOREVSKI; NELSON, 2011)

Durante toda vida adulta a mulher é exposta continuamente às flutuações hormonais conhecido com ciclos hormonais. Os ciclos são regulados pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário, onde o hipotálamo secreta hormônios que atuam na adenohipófise e esta libera hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH). O FSH age sobre as gônadas e estimula o crescimento, a maturação do folículo ovariano e síntese de estrógenos. O FSH também estimula a síntese de progesterona pelas células da teca na metade do ciclo menstrual e pelo corpo lúteo depois da ovulação. Os esteroides ovarianos atuam na mama afim de prepará-la para a lactação (AIRES, 2012).

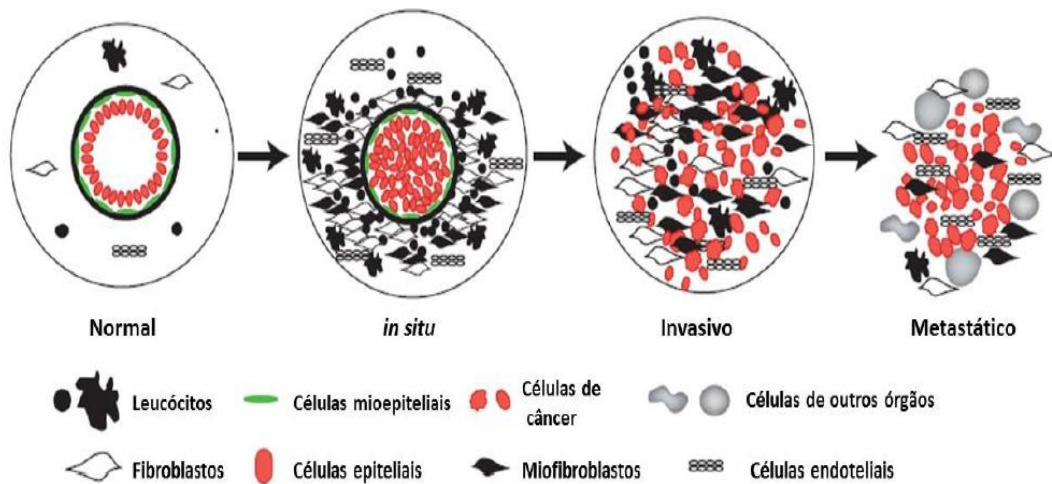
Na gestação verifica-se a proliferação do epitélio luminal e a diferenciação em alvéolos produtores de leite (GJOREVSKI; NELSON, 2011). Após a lactação ocorre alta taxa de apoptose dos alvéolos excedentes (WHATSON; KHALED, 2008).

4.4 DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE MAMA

As TEBs/ULDTs são estruturas com alto poder de proliferação, portanto acredita-se que o câncer de mama tenha início neste local. Assim trata-se de um ambiente suscetível a alterações genéticas e epigenéticas (ROSIM, 2015).

Na Figura 3 há a sequência da proliferação do câncer de mama, o carcinoma *in situ* trata-se de uma proliferação nos ductos e lóbulos e é contida pela membrana basal. O carcinoma invasivo ocorre quando há infiltração para o estroma, as células podem atingir a corrente linfática e se disseminar para locais distantes da mama (KUMAR et al., 2010).

Figura 3 - Sequência da proliferação do câncer de mama.



Fonte: Adaptado de (POLYAK, 2010)

Os sítios mais comuns de metástases são cérebro, pulmões e ossos (POLYAK, 2010). Em estudo realizado no Hospital Araújo Jorge em Goiânia (GO) com 140 prontuários de pacientes com câncer de mama durante o período de 1998 a 2010, dos quais 75 casos (53,6%) possuíam diagnóstico de câncer de mama triplo negativo. Durante os cinco anos de acompanhamento, a doença metastática ocorreu em 52%. A distribuição do padrão de metástase obedeceu à proporção de 30,8% nos pulmões, 12,8% nos ossos, 12,8% no cérebro, 10,3% nas mamas, 7,7% no

fígado, 2,6% nos ovários, 2,6% no útero, 41,0% nos linfonodos e 20,5% em outros sítios (MARTINS et al., 2017).

4.5 CLASSIFICAÇÃO DO CÂNCER DE MAMA

Na 12^o edição St. Gallen International Breast Cancer Conference Expert Panel, em 2011, houve a classificação dos subtipos de câncer de mama com base nos exames de imunistoquímica (IQ). Nessa conferência foi sustentado o uso do receptor de estrógeno (ER), do receptor de progesterona (PR), do receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) e do Ki-67, um marcador de proliferação celular (GOLDHIRSCH et al., 2011).

Em 2012, a Organização Mundial da Saúde realizou outra classificação sobre o câncer de mama, os tumores epiteliais foram agrupados em 9 tipos especiais e suas variantes e 11 tipos raros além do carcinoma ductal invasivo, ver apêndice 1 para maiores detalhes. Nesta classificação consideraram-se aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos, genéticos e moleculares, pois esses são importantes para direcionar uma terapia mais precisa a cada paciente (GOBBI, 2012).

A nova classificação dos subtipos clínico-patológicos segundo a 13^o edição St Gallen International Breast Cancer Conference Expert Panel de 2013 , utilizada atualmente, ficou assim estabelecida: Luminal A-like de baixo índice de recorrência calculado pelas assinaturas gênicas (21-gene e 70-gene) quando disponíveis; Luminal B-like HER2 negativo que pode ter alto índice de recorrência calculado pelas assinaturas gênicas; Luminal B-like HER2 positivo expressa RE e superexpressa HER2, independentemente do estado do PR e do Ki-67; Superexpressão de HER2 ou HER2 positivo (não luminal) e triplo-negativo. No quadro 1 podemos verificar os subtipos e suas características (SERRA et al., 2014).

Quadro 1 - Subtipos clínico patológicos e suas características.

Subtipos clínico patológicos	Receptores hormonais	HER2	Ki-67
Luminal A-like	Expressa ER e PR > ou igual a 20%	Não expressa HER2	<14% (baixa expressão)
Luminal B-like HER2 negativo	ER+, PR+ <20%	Não expressa HER2	>14% (alta expressão)
Luminal B-like HER2 positivo	ER+ e PR qualquer valor	Expressa HER2	Qualquer valor
Superexpressão de HER2 ou HER2 positivo (não luminal)	Não expressa receptores hormonais (ER e PR)	Superexpressa HER2	
Triplo negativo	Não expressa ER e PR	Não expressa HER2	

Fonte: Modificado de (SERRA et al., 2014; GOLDBIRSCH et al., 2011).

O subtipo triplo negativo, que na maioria dos estudos apresenta frequência entre 10-20%, foi identificado em quase um quarto da população estudada (24,2%) em um estudo realizado em Juiz de Fora no estado de Minas Gerais com 397 mulheres. Esse subtipo exibiu percentuais maiores em pacientes mais jovens, com menos de 50 anos (40%) e de cor da pele não branca (39,7%). Além disso, apresentavam estágio avançado da doença ao diagnóstico e com índices de proliferação celular mais elevado (CINTRA et al., 2011).

Dentro dos triplos negativos há subgrupos. O subgrupo Claudin low é um triplo negativo com baixa expressão de genes de adesão conhecidos como genes claudina, frequência de 12 a 14% e de prognóstico pobre, a resposta à quimioterapia

pré-operatória é intermediária entre o triplo negativo e tumores luminais (DE ABREU et al., 2011; PRAT et al., 2010).

O subgrupo chamado Basal-like ou Basaloide é um triplo negativo caracterizado pela expressão de vários genes nas células basais/mioepiteliais. Também apresenta alto grau histológico, elevado índice mitótico, expressão citoceratina 5 e baixa expressão do gene BRCA1 devido a hipermetilação do mesmo. Assim trata-se de um subgrupo onde os pacientes possuem uma menor sobrevida global (CIRQUEIRA et al., 2011).

De maneira geral, as pacientes que se encontram nos subtipos luminais são conduzidas a hormonioterapia, já as que se enquadram no subtipo superexpressão de HER2 são tratadas com anticorpo monoclonal (trastuzumab) e as pacientes do subtipo triplo negativos são encaminhadas a quimioterapia (SERRA et al., 2014).

4.6 MARCADORES MOLECULARES

Os principais marcadores específicos utilizados, não apenas para classificar, mas também para guiar uma conduta terapêutica são o receptor de progesterona (PR), o receptor de estrógeno (ER), o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) e o antígeno Ki-67 (DE ABREU et al., 2014).

4.6.1 RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ER)

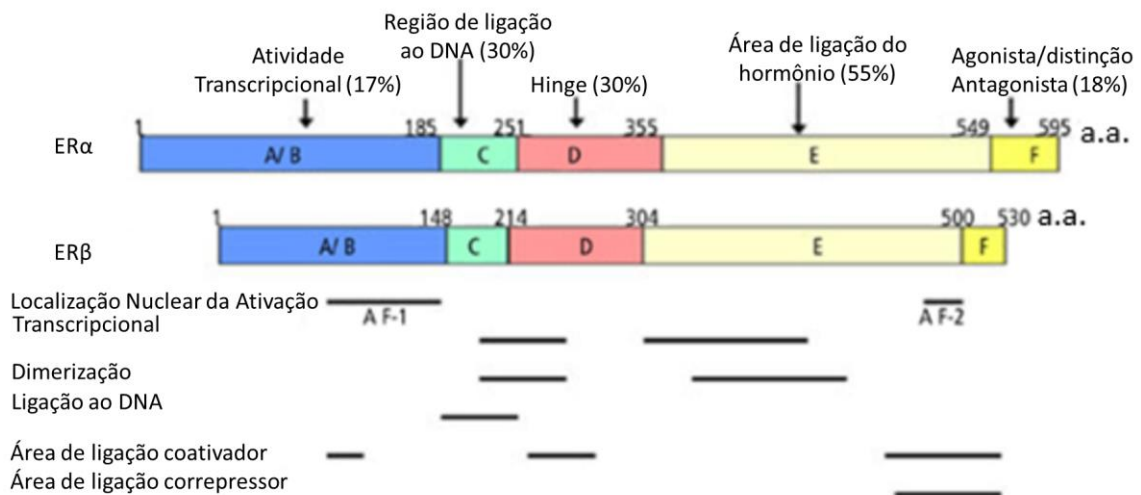
A glândula mamária é responsiva às flutuações hormonais no ciclo reprodutivo, e são remodeladas na expectativa de uma possível gravidez, quando esta gravidez não se estabelece as células entram em apoptose (SILVA, 2014).

O receptor de estrógeno é um receptor citoplasmático/nuclear e existem dois tipos, os ER β e ER α sendo que o ER β é menor de tamanho em comparação com o ER α . O ER β é expresso pelo gene ER β localizado no braço longo do cromossomo 14 (14q23-24.1), mais frequente em ovários e tecido ósseo. No epitélio mamário há

predominância de ER α codificado pelo gene ER α localizado no braço longo do cromossomo 6 (6q25) (GIACOMAZZI, 2008).

O transcrição e tradução do gene ER α resulta em uma proteína com 595 aminoácidos (a.a.), com domínios funcionais diferentes denominados de A à F (Figura 4). O domínio A/B na extremidade amino-terminal (N-terminal) apresenta variabilidade e contém o domínio de transativação hormônio independente AF-1, o domínio C, na região central é altamente conservado e contém o domínio de ligação ao DNA (DBD) este possui dedos de zinco. O domínio D está relacionado à atuação das proteínas co-regulatórias (repressoras e ativadoras) e contém sinais de localização nuclear. Os domínios E/F, localizados na extremidade carboxi-terminal (C-terminal), contém o domínio de ligação ao ligante (LBD), o qual apresenta os domínios de transativação AF-2 (CASOLARI, 2008).

Figura 4 – Representação esquemática do receptor de estrógeno α e β com seus domínios estruturais e funcionais.



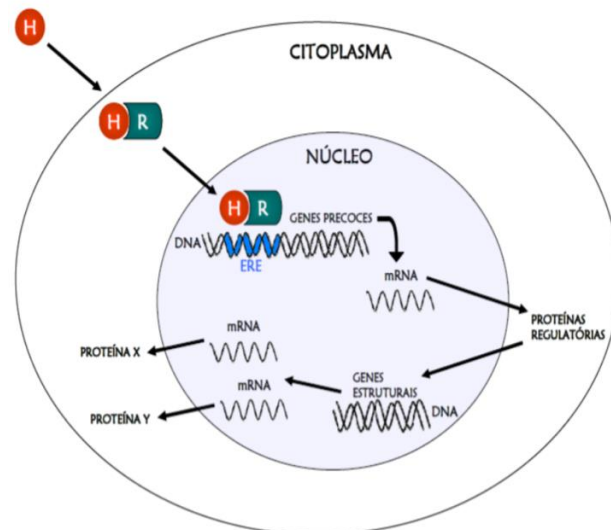
A porcentagem de conservação dos domínios está representada entre os receptores.

Fonte: Adaptado de (KLINGE, 2000 apud SOUZA et al., 2012, p.181)

As isoformas ER α e ER β são expressas em glândulas mamárias normalmente, mas a isoforma ER α está diretamente envolvida com processos patológicos (DE ABREU et al., 2014).

Os hormônios esteroidais (H) (estrógeno e progesterona) possuem mecanismo de ação característico como podemos ver na Figura 5, o modelo clássico foi descrito em 1993 por Schuchard e colaboradores, neste os hormônios esteroidais difundem-se pela membrana celular, formando complexos com o seu receptor, resultando na ativação do mesmo. A ativação envolve mudanças conformacionais e associações proteína-proteína, que capacitam o complexo hormônio-receptor a ligar-se a regiões do DNA chamadas elementos responsivos a esteroides (EREs) (SCHUCHARD, 1993 apud BRANCHINI, 2007, p.21).

Figura 5 – Mecanismo de ação dos hormônios esteroidais.



O hormônio esteroide (H) difunde-se pela membrana e no citoplasma liga-se ao seu receptor específico (R), juntos o complexo (H-R) entra no núcleo e se liga a elementos responsivos aos hormônios esteroides (ERE) no DNA, localizados nos promotores dos gene-alvos, induzem a transcrição dos genes precoces. A proteína resultante da transcrição e tradução destes genes regula a transcrição dos genes estruturais tardios cujos produtos interferem no desenvolvimento celular (proteína X e proteína Y).

Fonte: (SCHUCHARD, 1993 apud BRANCHINI, 2007, p.22)

Os EREs são sequências de DNA localizadas anteriormente ao sítio de início da transcrição do gene responsivo ao esteroide. Uma vez ligado a essa sequência, o complexo hormônio-receptor atua como fator de transcrição, modulando a taxa de transcrição do gene alvo. O modelo propõe também que a ligação do complexo H-R aos EREs ativa a transcrição dos chamados genes regulatórios precoces, cuja

resposta ocorre poucos minutos após a estimulação hormonal. As proteínas codificadas por estes genes retornam ao núcleo e modulam a expressão dos chamados genes estruturais tardios. Estes genes codificam proteínas envolvidas no efeito determinado pelo hormônio (SCHUCHARD, 1993 apud BRANCHINI, 2007, p.21).

O estrógeno induz a proliferação celular em diferentes locais do organismo e controla múltiplas funções nas células do câncer de mama que são hormônio-sensíveis e desencadeia um evento proliferativo nessas células (SILVA, 2014).

Os tumores positivos para o receptor de estrógeno estão relacionados a um menor risco de recidiva e aumento da sobrevida, pois utilizam hormonioterapias que são antagonistas dos hormônios que estimulam o crescimento do tumor (BRITO, 2011).

4.6.2 RECEPTOR DE PROGESTERONA (PR)

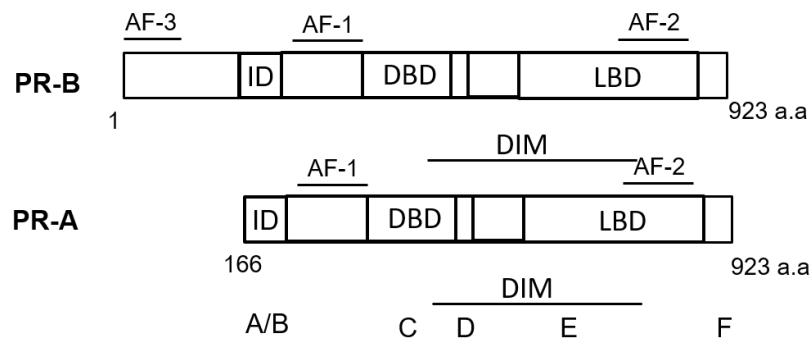
A progesterona é um hormônio produzido nos ovários e sua liberação depende de outros hormônios como LH, FSH e prolactina. Esse hormônio exerce efeito sobre o endométrio (aumentando espessamento), parede vaginal (diminuição da espessura do epitélio) e nas glândulas mamárias (diferenciação e proliferação celular) (SILVA, 2014).

A progesterona interage com proteínas intracelulares denominadas receptores de progesterona, que apresenta duas isoformas A e B (PR-A e PR-B), ambas isoformas são resultantes da transcrição de um único gene induzido pelo estrógeno (BRANCHINI, 2007).

Na Figura 6 verifica-se as isoformas do receptor de progesterona e seus domínios funcionais. Em PR-B temos os domínios de transativação (AF-1, AF-2 e AF-3), o domínio inibitório (ID), o domínio de ligação ao DNA (DBD) na região central, o domínio de ligação ao ligante (LBD) e DIM que são sequências importantes para a dimerização do receptor. Em PR-A não há AF-3 (MULAC-JERICEVIC; CONNEELY, 2004).

Essas isoformas têm ações diferentes dependendo do tecido. A isoforma A está presente nas glândulas mamárias durante a fase folicular e no estroma na fase lútea. A isoforma B é mais expressa na fase lútea (SILVA; LARA, 2011).

Figura 6 - Representação esquemática das isoformas A e B do receptor de progesterona com seus domínios estruturais e funcionais.



Os números indicam a posição dos aminoácidos em cada proteína. AF1, AF-2 e AF-3 são domínios de transativação; DBD: Domínio de ligação ao DNA; LBD: Domínio de ligação ao ligante; ID: Domínio inibitório; DIM: Sequências importantes para a dimerização do receptor.

FONTE: (MULAC-JERICEVIC e CONNEELY, 2004)

O controle da transcrição do gene da progesterona é realizado pelas próprias isoformas. A isoforma A está envolvida com o polimorfismo genético funcional, possui a capacidade de inibir a transcrição do gene da progesterona. Quando ocorre uma diminuição de sua estabilidade, o PR-A que inibia a transcrição agora perde esta capacidade e isto gera um descontrole sobre os receptores. Assim a glândula mamária fica mais exposta a ação dos hormônios estrogênicos (CESAR et al., 2012).

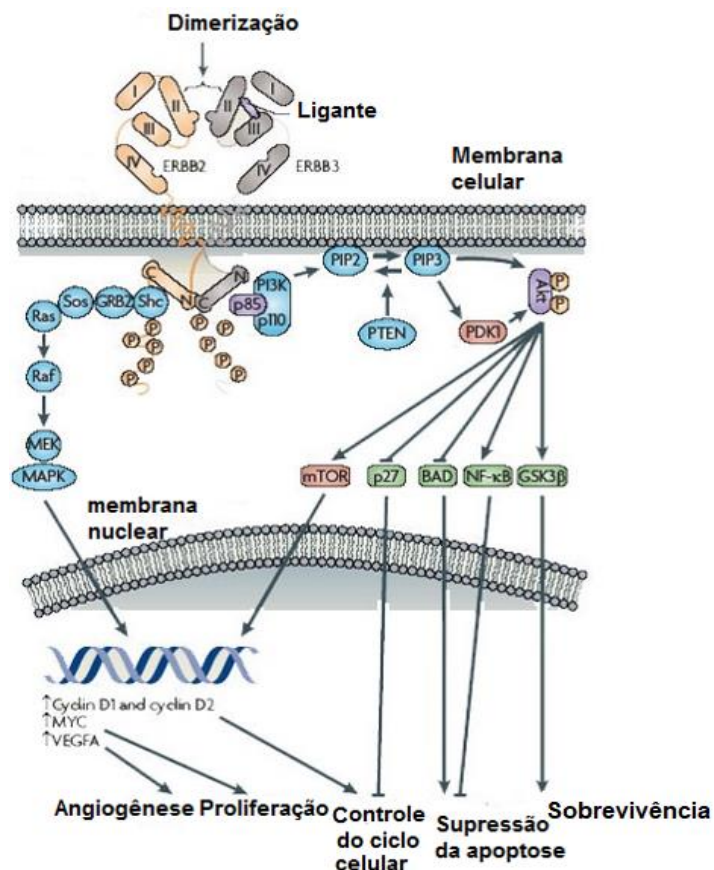
4.6.3 RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO HUMANO 2 (HER2)

O receptor de crescimento epidérmico humano 2 pertence à família de receptores HER1, HER2, HER3 e HER4, também são conhecidos como ERBB1,

ERBB2, ERBB3 e ERBB4. Trata-se de receptores com atividade tirosina quinase e seu ligante endógeno é o fator de crescimento epidérmico (EGF), essas proteínas transmembranares estão presente em muitos tecidos, porém sua superexpressão está relacionada a tumores (MARMOR; KOCHUPURAKKAL; YARDEN, 2003).

Esses receptores formam dímeros (homodímeros ou heterodímeros) depois de ativados pelo ligante. O HER2 não se liga diretamente ao ligante e também não forma homodímeros HER2/HER2, mas o HER3 consegue formar heterodímeros com o HER2, HER3/HER2 (Figura 7) (GERBIN, 2010).

Figura 7 – Dimerização de receptores ERBB. ERBB3 ativando ERBB2.



Fonte: Adaptado de (GERBIN, 2010)

Após a dimerização, ocorre a fosforilação de tirosinas nas caudas C-terminais e dependendo dos sítios de fosforilação dos receptores envolvidos haverá uma propagação na sinalização intracelular variada. Na figura acima, verificamos que a dimerização de ERBB3/ERBB2 pode propagar uma sinalização que irá aumentar a

transcrição de genes responsáveis pelas proteínas ciclina D1 e D2, fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e MYC que estão relacionados a angiogênese, proliferação celular, supressão da apoptose e sobrevivência (GERBIN, 2010).

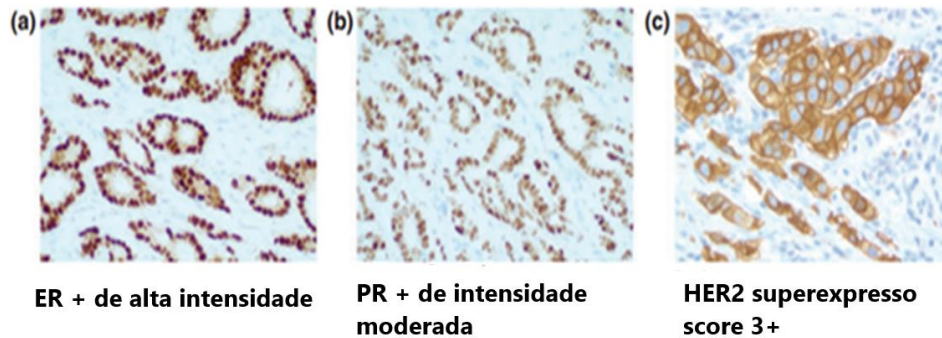
4.6.4 ANTÍGENO Ki-67

O antígeno Ki-67 é uma proteína nuclear não histona que está fortemente ligada ao ciclo celular e é expressa nas fases G1, S, G2 e M de células em proliferação, mas não em células G0 (células em repouso). O escore Ki-67 é medido em cortes histológicos pela metodologia IQ e sua avaliação quantitativa pode oferecer uma estimativa precisa do índice de proliferação tumoral. De acordo com o Consenso de St. Gallen de 2011, o índice de proliferação é considerado baixo ou negativo, quando há 14% ou menos de núcleos corados e é considerado positivo ou alto, quando há mais de 14% de núcleos corados (HIRATA et al., 2014).

Considerando não apenas os critérios utilizados na classificação histológica, existe também a análise dos marcadores imunoistoquímicos e quando disponíveis usa-se as assinaturas gênicas que prevê a resposta a terapia (DE ABREU et al., 2014).

Os marcadores tumorais mencionados acima (PR, ER, HER2, Ki-67) podem ser analisados pelo método de IQ. Na Figura 8 podemos observar possíveis resultados que podem estar presentes ou não no câncer de mama, este exame laboratorial auxilia na classificação do tumor e conseqüentemente guia uma conduta terapêutica (DE ABREU et al., 2014).

Figura 8 - Classificação do câncer de mama por método de imunohistoquímica.



Fonte: Adaptado de (DE ABREU et al., 2014)

4.7 ASSINATURAS GÊNICAS

As assinaturas gênicas ou perfis de expressão gênica são testes genéticos onde pesquisa-se genes que podem estar envolvidos com o câncer de mama. O objetivo com estes exames é obter informações preditivas e até mesmo o prognóstico (CESAR et al., 2012).

O MammaPrint® aprovado pelo FDA é um teste capaz de avaliar o risco de recorrência em câncer de mama em estágio inicial, podendo orientar os médicos na tomada de decisão de tratamentos (BEUMER et al., 2016).

A análise de 70 genes é realizada em tecido fresco do tumor, adiciona-se preservante de RNA mensageiro (mRNA) e envia este para um laboratório na Holanda onde é realizado o teste histológico para verificar se o tecido possui tumor. A tecnologia utilizada no MammaPrint é microarray, trata-se de um chip com grades onde cada grade contém um DNA com um código diferente que corresponde a determinado gene específico. Os micro-arranjos de DNA permitem a análise de milhares de genes simultaneamente (MATOS et al., 2017).

O resultado é dado em baixo risco de metástase (bom prognóstico) ou alto risco de metástase (mau prognóstico). Se o risco de recorrência for baixo, a terapia pode ser feita somente com hormonioterapia e a quimioterapia não é necessária (SERRA et al., 2014).

A desvantagem é que este teste não foi otimizado para pacientes com tumores receptores de estrógeno positivo tratados com terapia endócrina, nem sempre os genes relacionados com tal terapia estão inclusos no MammaPrint® (CESAR et al., 2012).

O Oncotype DX® (Ensaio de Câncer de Mama Oncotype DX) foi desenvolvido para quantificar o risco de retorno do câncer em pacientes com tumores de mama linfonodo-negativo e receptor de estrógeno positivo (CESAR et al., 2012).

O Oncotype DX® avalia a expressão de 21 genes no tecido mamário, seja ele parafinado ou fresco, pela reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa em tempo real. O teste consiste na avaliação de 16 genes relacionados ao câncer de mama e cinco genes de referência (GAPDH, ACTB, RPLPO, GUS e TFRC). Os 16 genes incluem aqueles relacionados ao receptor de estrógeno (ER, PR, BCL2 e SCUBE2), proliferação (Ki-67, STK15, Survivin, CCNB1 e MYBL2), HER2 (HER2 e GRB7), invasão (MMP11 e CTSL2), além de três genes adicionais relacionados (GSTM1, CD68 e BAG1) (DELMONICO; ALVES; AMARAL, 2015).

O resultado é dado em score de recorrência, a pontuação prediz o benefício da quimioterapia e indica o risco de retorno em dez anos. Variando de 0 a 100, abaixo de 18 baixo risco de desenvolver câncer dez anos após o tratamento, tumor sensível a hormonioterapia e baixo benefício a quimioterapia. Pontuação entre 18 e 31, risco intermediário e de 31 a 100, alto risco, tumor agressivo não tão sensível à hormonioterapia, indicada quimioterapia (CESAR et al., 2012).

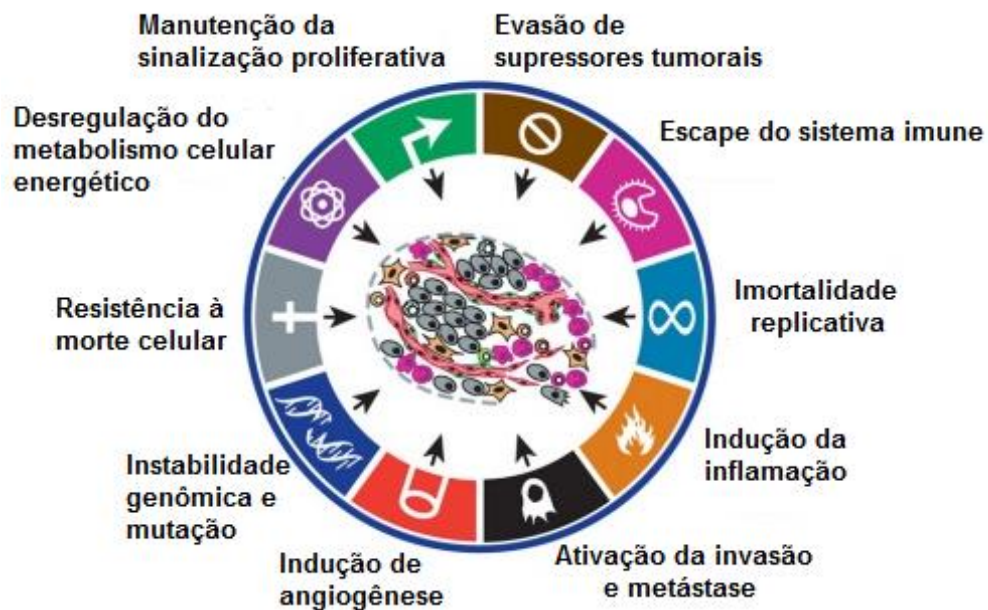
O Oncotype DX® é o teste mais utilizado na clínica, com maior número de pesquisas de validação e respostas sobre níveis de recorrência e benefícios na ausência de quimioterapia (DELMONICO; ALVES; AMARAL, 2015).

4.8 INSTABILIDADE GENÔMICA E MUTAÇÃO

O desenvolvimento do câncer depende de um conjunto de ações desempenhadas por parte do organismo, essas características foram denominadas como Hallmarks do câncer descritas por Hanahan e Weinberg (2011). Os dez

hallmarks podem ser vistos na Figura 9 e são eles: evasão de supressores tumorais, escape do sistema imune, imortalidade replicativa, indução da inflamação, ativação da invasão e metástase, indução de angiogênese, instabilidade genômica e mutação, resistência à morte celular, desregulação do metabolismo celular energético e manutenção da sinalização proliferativa.

Figura 9 – Hallmarks do câncer.



Fonte: Adaptado de (HANAHAN; WEINBERG, 2011)

A instabilidade genômica é resultado do aumento ou diminuição da expressão de genes, normais ou alterados, que podem levar a tumorigênese, progressão, metástase e recidiva do tumor, isso ocorre devido à perda de material cromossômico, duplicações ou inversões, ampliações, translocações e substituições de pares de base quando a célula perde seus mecanismos de reparo (PERES, 2013).

Há duas classes de genes envolvidas com a carcinogênese, os oncogenes e os genes supressores de tumores. Os proto-oncogenes são genes normais que podem se transformar em oncogenes e para que ocorra a ativação dos oncogenes basta que um dos dois alelos esteja alterado devido à amplificação gênica, mutação pontual ou translocação cromossômica. Por exemplo, o gene HER2 quando

amplificado aumenta o nível de proteína expressa sendo esse um dos marcadores de câncer de mama (FELICIO, 2015).

Os genes supressores tumorais são genes que codificam proteínas envolvidas na estabilidade genômica e na proliferação celular, sendo assim, uma perda da função destes genes pode permitir o desenvolvimento neoplásico. As modificações nesses genes podem ser devido à perda de heterozigotidade, mutações deletérias e alterações no padrão de metilação da região promotora. Os genes supressores tumorais relacionados com o câncer de mama são os BRCA1 (gene do câncer de mama 1), BRCA2 (gene do câncer de mama 2) e TP53 (tumor protein53) (FELICIO, 2015).

4.8.1 GENÉTICA

O câncer de mama hereditário representa de 5 a 10% do total de câncer de mama e geralmente verifica-se mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. No câncer de mama esporádico raramente estes genes estão mutados, mas sua expressão pode estar comprometida devido a metilação de DNA (PLAKHINS et al., 2011).

O gene TP53 é um gene supressor de tumor que codifica a proteína p53, essa proteína está envolvida em três processos celulares importantes: reparo do DNA (ácido desoxirribonucleico), morte celular e controle do ciclo celular; esses processos conferem vantagem na sobrevivência das células cancerosas (FELIX, 2014). Pessoas que possuem mutação no gene TP53 possuem um risco de predisposição a câncer que excede a 90% (CARDOSO; FAGANELLO; FRIZZO, 2015).

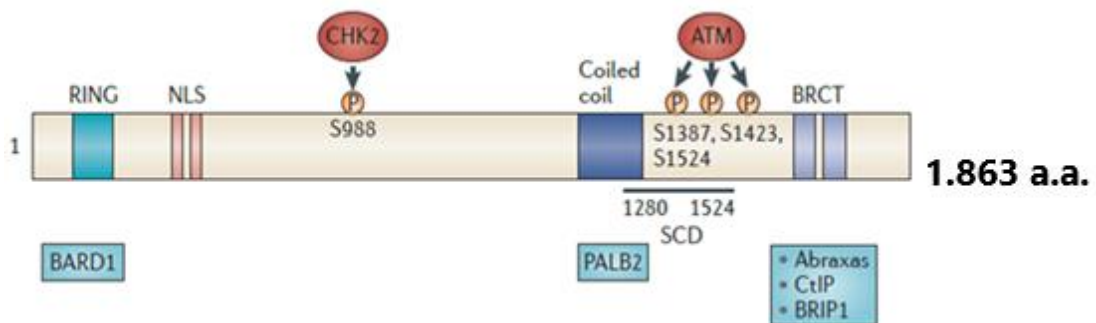
4.8.1.1 GENES BRCA1, BRCA2 E SUAS RESPECTIVAS PROTEÍNAS

O gene BRCA1 está localizado no braço longo do cromossomo 17 na posição q21 (17q21), é composto por 24 exons sendo que 22 codificam a proteína BRCA1

(exons 1 e 4 não são traduzidos) com 1.863 aa (CARDOSO; FAGANELLO; FRIZZO, 2015).

A proteína BRCA1 possui domínios importantes onde realiza interações com outras proteínas, esses domínios são: domínio RING (dedo de zinco) na região N-terminal e na região C-terminal, 2 domínios BRCTs (BRCA C Terminal) (Figura 10). O domínio RING compreende os primeiros 100 a.a. e interage com a proteína BARD1 formando um complexo hetero-dimérico com atividade ubiquitina-ligase E3. Os domínios BRCTs estão envolvidos com reconhecimento de danos no DNA (CURY, 2012).

Figura 10 - Esquema da proteína BRCA1 com seus domínios e proteínas de interação.



Fonte: Adaptado de (ROY; CHUN; POWELL, 2012)

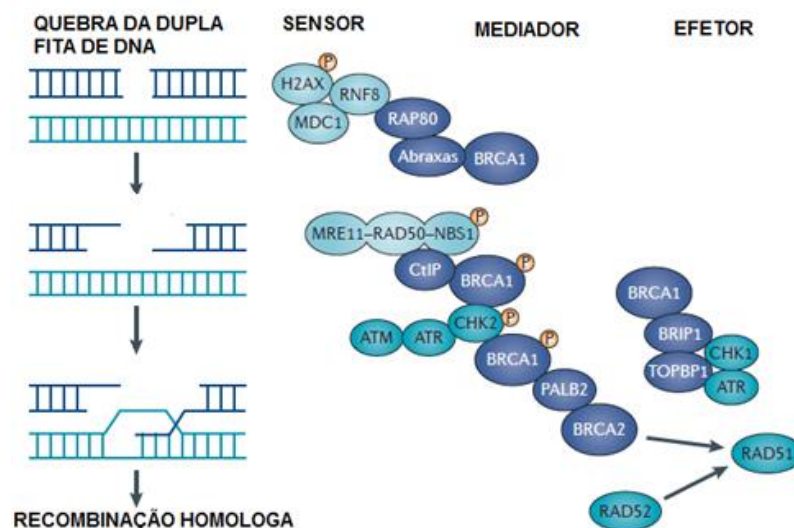
O reparo não homólogo arruma a quebra ao DNA por meio da religação de duas extremidades. Trata-se de uma via de reparo com maior potencial pois é capaz de ligar qualquer tipo de terminação, sem a necessidade de homologia entre as sequências e pode também ocorrer em qualquer fase do ciclo. No entanto, é um reparo susceptível a erros, pois pode causar pequenas inserções ou deleções (VILAR, 2014).

A recombinação homóloga repara as quebras da dupla cadeia de DNA durante as fases S e G2 do ciclo celular, quando uma cromátide irmã pode servir de modelo para o reparo (Figura 11). Este processo envolve quinases ATM (Ataxia-

telangiectasia mutada), ATR, CHK2 e BRCA1, efetores como BRCA2 e RAD51, e facilitadores PALB2 e BRIP1 (ROY; CHUN; POWELL, 2012).

A proteína BRCA1 está envolvida com ativação de pontos de checagem, atua como substrato de Chek2, sendo assim uma das principais proteínas da rede de checagem envolvida na regulação de processos de reparo por NHEJ e possivelmente apoptose. A fosforilação da Ser988 de BRCA1 por Chek2 é necessária para a liberação de BRCA1 do complexo com Chek2, sendo este evento indispensável para sobrevivência da célula depois do dano causado ao DNA (FELIX, 2014).

Figura 11 - Mecanismo molecular.



Estrutura cor azul claro: sensores;

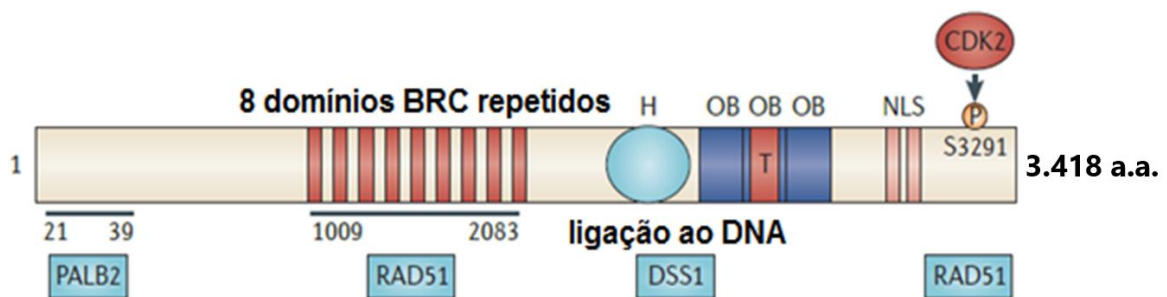
Estrutura cor azul escuro: BRCA1 contendo macro complexo;

Fonte: Adaptado de (ROY; CHUN; POWELL, 2012)

O gene BRCA2 está localizado no braço longo do cromossomo 13 na posição (13q12.3), é constituído por 27 exons sendo que 26 codificam a proteína BRCA2 (exon 1 não é traduzido) com 3.418 aa (Figura 12) (CARDOSO; FAGANELLO; FRIZZO, 2015).

A função primária da proteína BRCA2 está relacionada à sua participação no mecanismo de reparo por recombinação homóloga. A proteína BRCA2 medeia o recrutamento da proteína RAD51 à região de dano e esse recrutamento é responsável pela função supressora de tumor (ROY; CHUN; POWELL, 2012; VILAR, 2015).

Figura 12 - Esquema da proteína BRCA2 com seus domínios e proteínas de interação.



OB: Ligação de oligonucleotídeo; CDK2: Quinase dependente de ciclina 2; T: Domínio tower. N-terminal de BRCA2 liga-se a PALB2. Em C-terminal tem NLS e a CDK (quinase dependente de ciclina) fosforila o local S329.

Fonte: Adaptado de (ROY; CHUN; POWELL, 2012)

Muitas mutações associadas ao BRCA1 foram encontradas no domínio RING e BRCT, indicando que ambos domínios estão envolvidos com a supressão de câncer de mama.

4.8.1.1.1 MUTAÇÕES NOS GENES BRCA1 E BRCA2

As mutações nos genes BRCA's são transmitidas verticalmente, pois trata-se de uma herança autossômica dominante e os portadores da mutação tem 50% de chance em transmitir a mutação aos seus descendentes. Pessoas que possuem mutações nos genes BRCA1 e/ou BRCA2 possuem alto risco de desenvolver câncer de mama ao longo da vida (CESAR et al., 2012).

As mutações *missenses* (alteração de um a.a. originando a substituição por um a.a. diferente) clinicamente relevantes, as alterações *nonsense* (substituição de um nucleotídeo com conseqüente troca do aminoácido por um códon de parada), as alterações *frameshift* (mudança na matriz de leitura do DNA e criação de códon de terminação prematuro) e grandes deleções exônicas, foram classificadas patogênicas, pois causam modificações que levam a perda da função da proteína (FIGUEIREDO, 2014).

Aproximadamente 20% das mutações germinativas encontradas nos genes BRCA1 e BRCA2 são variantes de significado clínico incerto (VUS, do inglês *variants of uncertain significance*), que são variações na sequência nucleotídica de um gene, que pode acarretar na alteração da sequência da proteína, porém não se sabe o impacto na função da mesma. As VUS incluem as mutações missense, mutações silenciosas (altera o nucleotídeo, mas não modifica o aminoácido, exceto se localizado em região de splicing), mutações intrônicas, mutações nas regiões de splicing, inserções ou deleções in frame (FIGUEIREDO, 2014; FELICIO, 2015).

As mutações patogênicas mais frequentes no gene BRCA1 são: 185delAG e 5382insC. Existem populações que apresentam maior frequência para determinadas mutações, por exemplo, os judeus Ashkenazi apresentam mutações 185delAG, 5382insC (ambas em BRCA1) e 617delT no gene BRCA2 (FELICIO, 2015; CUNHA, 2011).

Em um estudo realizado na região do Rio de Janeiro no período de 2003 a 2005 com 403 pacientes que apresentaram câncer de mama invasivo e idade entre 25 e 67 anos, revelou que a mutação mais comum foi a 538insC no BRCA1, sendo 56% das mutações (GOMES et al., 2011). Foram encontradas 9 mutações, isto representa 2,3% do total de pacientes, sendo 6 no BRCA1 (5 casos de 538insC e 1 caso de 3347delAG) e 3 no BRCA2 (2 casos de 6633del5 e 1 caso de 617delT). Gomes e colaboradores acreditam que 2,3% seja um valor subestimado, uma vez que todas famílias foram testadas para as mutações mais comuns, além das mutações nos exons mais longos. Em apenas 12 casos com história familiar fortemente positiva foi realizado o sequenciamento genético completo. Estimam que a região codificada pelo exon longo contenha 75% das mutações; assim, 1.000 dos

50.000 casos de câncer de mama anuais poderiam ter mutações no BRCA1 e 500 teriam mutação 5382insC.

Em São Paulo, um estudo realizado com 128 pacientes diagnosticadas com cânceres de mama e/ou ovário e mama e/ou colorretal hereditários, no período de 2007 a 2010 no A.C. Camargo Cancer Center, foi feito sequenciamento completo dos genes BRCA1 e BRCA2 a partir de amostras do sangue periférico e verificou-se que a maioria das alterações encontradas nos genes BRCA1 e BRCA2 são pequenas inserções, deleções e mutações pontuais. A frequência de mutações pontuais dos genes BRCA1 e BRCA2 foi de 20,3% (26/128), os quais 14,8% (19/128) foram atribuídos ao gene BRCA1 e 5,5% (7/128) ao gene BRCA2, demonstrando que o BRCA1 foi o mais mutado neste estudo, representando 73% das mutações pontuais. Também foram detectadas 18 VUS (4 no BRCA1 e 14 no BRCA2), sendo que duas foram descritas pela primeira vez no banco de dados do BIC (*Breast Cancer Information Core database*). A população brasileira apresenta alta miscigenação e não se pode excluir a possibilidade de estudar uma casuística não representativa da população brasileira (FIGUEIREDO, 2014).

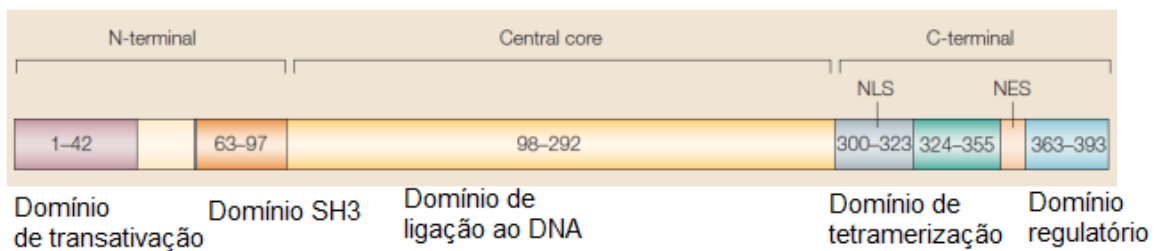
4.8.1.2 GENE TP53 E PROTEÍNA p53

O gene supressor de tumor TP53 está localizado no braço curto do cromossomo 17 na posição p13.1 (17p13.1), possui 11 éxons (o primeiro não é codificante) com tamanho de 20kb e codifica a proteína p53 (GIACOMAZZI, 2012).

A proteína p53 é denominada assim pelo seu peso molecular de 53 kDa, uma fosfoproteína nuclear, constituída por 393 a.a. que estruturalmente forma um homotetrâmeros. A Figura 13 mostra a p53 com seus domínios funcionais. Na extremidade amino-terminal da p53 existem dois domínios: o domínio de transativação que é responsável por regular a expressão de genes que atuam na parada do ciclo celular e na rota de apoptose e o domínio Src homology 3-like (SH3), também está localizado na extremidade N-terminal e é rico em a.a. prolina, requeridos para a interação da p53 com SIN3, o qual protege a p53 da degradação (FAGUNDES, 2016; MENEGHETTI, 2017).

Na região central existem os domínios de ligação ao DNA, que possibilitam a ligação de p53 em sítios específicos do DNA (FAGUNDES, 2016). E na extremidade C-terminal existem dois domínios e duas regiões: região chamada sinal de localização nuclear (NLS) seguida do domínio de tetramerização/oligomerização, responsável pela formação de tetrâmeros de p53, que é a forma mais ativa em transativação, na sequência região chamada de sinal de exportação nuclear (NES) e o domínio regulatório, cuja função é ligar-se ao domínio central de ligação ao DNA, impedindo a interação desta região com promotores de genes relacionados com a supressão e apoptose (FAGUNDES, 2016; MENEGHETTI, 2017).

Figura 13 - Esquema da proteína p53 com seus domínios.



Extremidade N-terminal com Domínio de transativação e Domínio Src homology 3-like (SH3), Região central com domínio de ligação ao DNA e Extremidade C-terminal com 2 domínios e 2 regiões: Sinal de localização nuclear (NLS), Domínio de tetramerização/oligomerização, Sinal de exportação nuclear (NES) e Domínio regulatório.

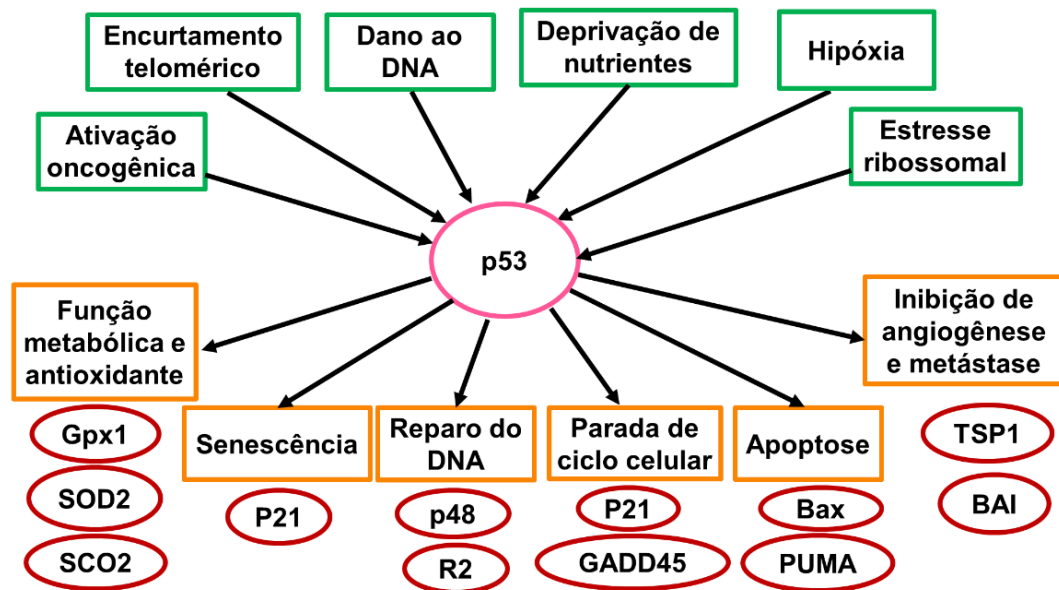
Fonte: Adaptado de (BODE; DONG, 2004, apud MENEGHETTI, 2017, p.16)

A proteína p53 pode ser ativada por diferentes tipos de estresse, por exemplos: dano ao DNA, hipóxia, estresse oxidativo, sinalização oncogênica, encurtamento de telômeros, deprivação de nutrientes, estresse ribossomal, entre outros, e dependendo da intensidade e natureza do estresse, irá determinar a resposta celular a ser desencadeada, como apoptose, reparo no DNA, parada de ciclo celular, processos metabólicos e antioxidantes, senescência, inibição da angiogênese, metástase (Figura 14) (GIACOMAZZI, 2012).

A proteína p53 possui tempo de meia-vida curta e em células normais sua quantidade é pequena, por isso que nesta situação em IQ ela é indetectável. A

superexpressão pode ser detectada na IQ e ocorre devido a mutação no gene que leva a produção de p53 cuja função fica comprometida (SERRA, 2014).

Figura 14 - Mecanismos ativadores da proteína p53 e suas atividades supressoras tumorais.



A proteína p53 tem como função integrar respostas celulares (em laranja) a diferentes tipos de estresse (em verde). Diversas proteínas (em vermelho) estão envolvidas com vias de sinalização intracelular mediadas pela proteína p53.

Fonte: Adaptado de (GIACOMAZZI, 2012)

4.8.1.2.1 MUTAÇÃO E POLIMORFISMO NO GENE TP53

As mutações no gene TP53 podem ocorrer nas células germinativas ou somáticas. Nas células germinativas estão associadas com a Síndrome Li-Fraumeni, uma rara síndrome familiar que causa uma predisposição para o desenvolvimento de neoplasias enquanto que mutações nas células somáticas estão associadas ao câncer, o gene TP53 em sua maioria apresenta mutações do tipo *missense* onde ocorre a substituição de um a.a. por outro. Além das mutações, há também os polimorfismos que têm sido sugeridos como fatores de risco para o desenvolvimento do carcinoma de mama (MELO, 2008).

A maioria das mutações no gene TP53 estão situadas nos domínios de ligação ao DNA, contudo alterações em outros domínios podem comprometer a estrutura da p53. A mutação TP53 Arg337His localizada no domínio de tetramerização/oligomerização codificado pelo exon 10 do gene TP53 devido a substituição de uma arginina por uma histidina. Esta alteração estrutural é evidente apenas com a elevação do pH. Em condições de pH=7 a proteína p53 mantém sua estrutura e sua função se assemelha à atividade da proteína selvagem, e em condições de pH=8, condições de estresse oxidativo, a dimerização dos monômeros fica comprometida e posteriormente a formação estrutural da p53 (HAHN, 2017).

O polimorfismo R72P do gene TP53 ocorre no exon 4, no códon 72 ao nível do nucleotídeo 215, onde há substituição de arginina por prolina. Assim TP53 pode conter um códon arginina (CGC) ou prolina (CCC) que podem estar envolvidos na suscetibilidade e predisposição ao câncer. Isto parece influenciar a expressão do gene TP53, uma vez que a substituição ocorre dentro do domínio de transativação (MELO, 2008).

Assim compreende-se a importância da integridade dos genes BRCA1, BRCA2, TP53 e proteínas de interação, células com alterações nestes locais ficam mais propensas a instabilidade genômica.

4.8.2 EPIGENÉTICA

A epigenética refere-se a alterações estáveis na expressão gênica sem modificações na sequência genética, recentemente revelou-se que a epigenética desempenha um papel importante nos fenômenos fisiológicos, como embriogênese, imprinting e inativação do cromossomo X e doenças como o câncer. A epigenética possui três mecanismos: ação dos pequenos RNAs não codificantes, modificação de histonas e metilação do DNA (TABY; ISSA, 2010).

Existe uma regulação epigenética do epigenoma e isto está relacionado com a expressão gênica tecido-específica e no silenciamento de elementos transponíveis, que previne a inserção de agentes mutagênicos em outras partes do genoma. As alterações epigenéticas podem ocorrer no genoma de um indivíduo em

qualquer momento da vida e também podem ser transmitidas as células subsequentes (COSTA; PACHECO, 2013).

4.8.2.1 RNAs NÃO CODIFICANTES (ncRNA)

Os ncRNAs são moléculas de RNAs que não são traduzidas em proteínas, mas que regulam a expressão gênica em nível pós-transcricional (MASKEY et al., 2017).

Os ncRNAs são divididos em pequenos ncRNAs (sncRNAs) e longos ncRNAs (lncRNA). Os sncRNAs podem ser subdivididos em pequenos RNAs (siRNAs, 19-23 nucleotídeos (nt)), piwi RNAs (piRNAs, 26-30nt) e microRNAs (miRNA, 18-25nt). Os lncRNA, acima de 200 nt podem ser classificados de acordo com sua localização genômica como sense, antisense, intrônico e intergênico (TORDONATO et al., 2015).

Os miRNA estão relacionados com processos como regulação da proliferação celular, diferenciação, angiogênese, migração e apoptose. Os miRNA podem ser encontrados em glândulas mamárias e fluidos biológicos como o sangue (CARDOSO; FAGANELLO; FRIZZO, 2015). O controle da expressão dos miRNA normalmente é vinculado à expressão do gene hospedeiro, onde ambos encontram-se sujeitos à mesma região promotora (SCHOOFF, 2011).

Existem miRNA que estão presentes em todas as fases do desenvolvimento do câncer de mama e há outros que estão presentes apenas em processos específicos. Os miRNA podem ser considerados supressores tumorais, oncogenes ou reguladores de metástases (ALBÍZTEGUI et al., 2014).

A função reguladora dos lncRNA depende da interação com outras moléculas. Os lncRNA atuam como um guia, direcionando complexos ribonucleicos para locais específicos afins de controlar a expressão gênica. No quadro 2 estão demonstrados alguns miRNA e lncRNA relacionadas com o câncer de mama (TORDONATO et al., 2015).

Quadro 2 – Lista de miRNA e lncRNA vinculados ao câncer de mama.

NcRNAs	Função
Let-7/miR-200	Inibe a transição epitelial para mesenquimal (EMT)
miR-205	Inibe EMT e tumorigênese mamária
Linc-ROR	Promover EMT
Lnc-H19/miR-675	Promover metástase do tumor

Fonte: Modificado de (TORDONATO et al., 2015)

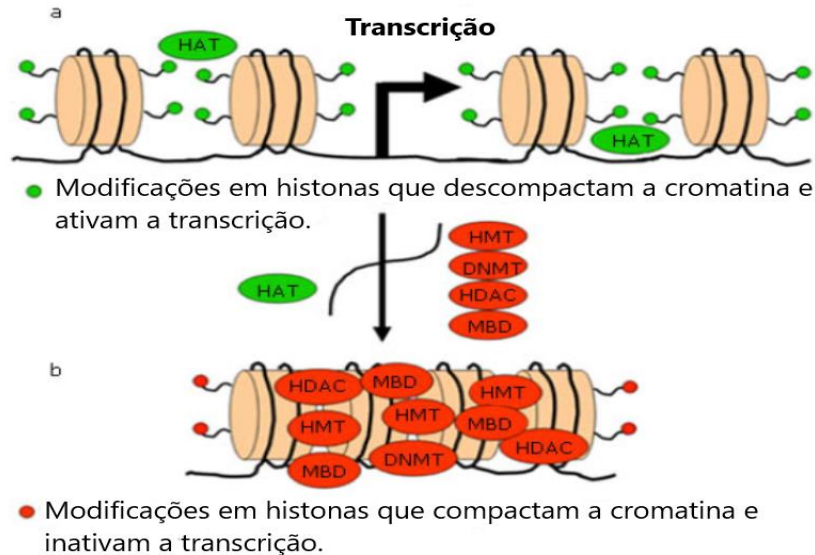
4.8.2.2 MODIFICAÇÃO DE HISTONAS

A regulação da compactação do DNA depende das modificações nas histonas e da metilação do DNA. As histonas H1, H2A, H2B, H3 e H4 são proteínas que se localizam no núcleo, onde o DNA se enrola para favorecer a compactação da cromatina. As modificações, principalmente nas H3 e H4, promovem o empacotamento da cromatina levando ao silenciamento gênico e sabe-se que esses mecanismos de regulação estão frequentemente alterados no câncer (YUNDA; MANCERA, 2014).

As histonas são proteínas com domínio globular e sua extremidade N-terminal rica em lisina sofre modificações pós-traducionais. Essas modificações podem ser: acetilação, fosforilação, metilação, entre outras, sendo o conjunto dessas modificações um complexo de informações epigenéticas conhecido como o código das histonas. Na Figura 15 podemos observar uma das modificações pós-traducionais. A acetilação de histonas específicas está relacionada com a cromatina relaxada, permitindo a transcrição de genes e a desacetilação está relacionada com a compactação da cromatina (CASTRO, 2013).

A fosforilação de histonas pode ocorrer em todas as histonas, nos resíduos de serina e treonina. A fosforilação da histona H3 está associada com ativação da transcrição durante a interfase (cromatina descondensada) e na divisão celular onde há condensação cromossômica (MONTANHER; BODA; RIBEIRO NETO, 2015).

Figura 15 – Regulação da atividade transcrricional por modificações das histonas.



As alterações pós-traducionais nas histonas são necessários para regular a ativação ou repressão da atividade transcrricional. Em “a” observa-se como as modificações nas histonas descompactam a cromatina e permitem o acesso da maquinaria transcrricional ao DNA. Entre essas modificações está a acetilação das lisinas nas histonas H3 e H4 pelas histonas acetiltransferases (HAT). Em “b” observa-se a compactação das histonas, dificultando o acesso da maquinaria transcrricional ao DNA

Fonte: Adaptado de (YUNDA; MANCERA, 2014)

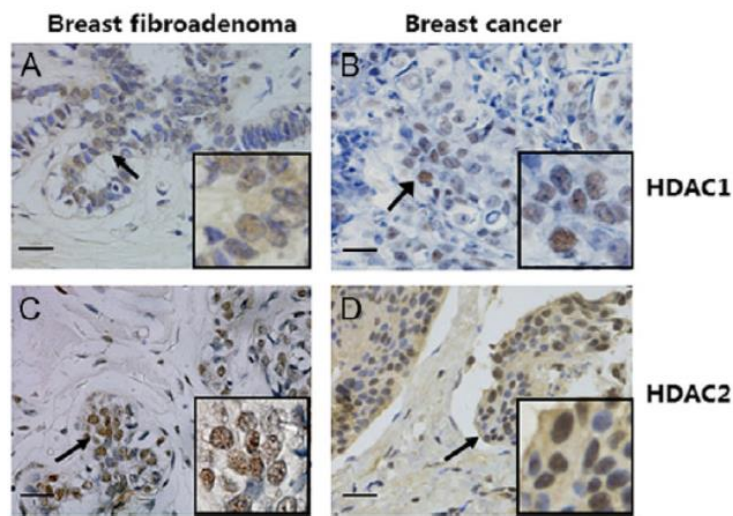
As histonas também podem sofrer metilação nas lisinas. A quantidade de metilações (monometilação, dimetilação e trimetilação) e qual lisina recebe é o que determinará se haverá ativação ou inibição da transcrição. Esse processo ocorre através das histonas metiltransferases (HMTs) (KLASSEN, 2016).

Entre as mais importantes das reações encontram-se a desacetilação das lisinas nas histonas H3 e H4 pelas histonas desacetilases (HDAC). O início deste processo, acarreta no recrutamento simultâneo das histonas metiltransferases (HMT), das DNA metiltransferases (DNMT) e das proteínas de ligação à metilcitosina (MBD), levando ao silenciamento gênico (YUNDA; MANCERA, 2014).

As HDAC possuem isoformas, HDAC1 e HDAC2. Em estudo realizado com 226 pacientes com câncer de mama esporádico e 34 pacientes com fibroadenomas no período de 2004 e 2014, verificou-se por meio de imunistoquímica que 58,4%

(132/226) das amostras com câncer de mama esporádico foram positivas para HDAC1 e 55,4% (19/34) dos fibroadenomas foram positivos para HDAC (Figura 16 A e B). Observou-se que 57,5% (130/226) das amostras com câncer de mama esporádico eram positivas para HDAC2 e 35,3% (12/34) dos fibroadenomas eram positivos para HDAC2 (Figura 16 C e D) (ZHAO et al., 2016).

Figura 16 – Imunoistoquímica para HDAC1 e HDAC2 em fibroadenomas e câncer de mama esporádico.



A e B: Imunoistoquímica positivo para HDAC1 em fibroadenomas e câncer de mama esporádico.

C e D: Imunoistoquímica positiva para HDAC2 em fibroadenomas e câncer de mama esporádico. As setas indicam o campo ampliado. Ampliação de 400x.

Fonte: (ZHAO et al., 2016)

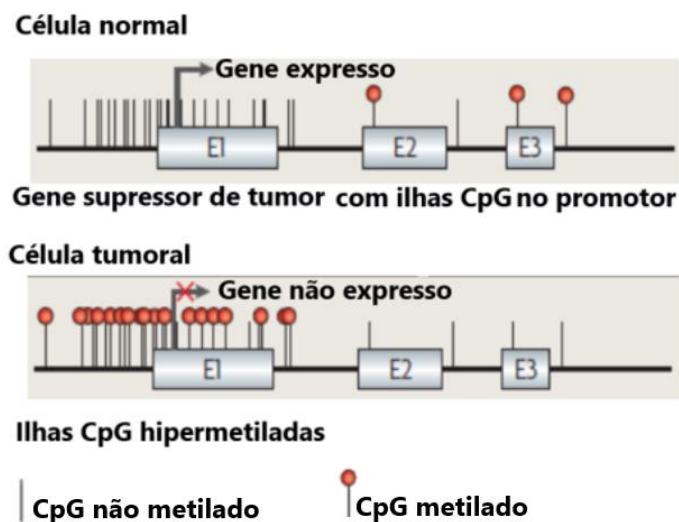
Zhao et al (2016) demonstraram que HDAC1 e HDAC2 estão relacionadas com progressão e com o prognóstico do câncer de mama. Já o subtipo superexpressão de HDAC2 foi correlacionado com metástases nos linfonodos, estágio avançado, alto grau histológico, expressão do antígeno Ki-67 e menor sobrevida global (ZHAO et al., 2016).

4.8.2.3 METILAÇÃO DO DNA

Nas células cancerosas, o DNA pode apresentar diferentes níveis de metilação. A hipometilação global ocorre em regiões repetitivas do genoma, regiões que possui retrotransposons, promotores pobres em CpG e íntrons (KLASSEN, 2016). E a hipermetilação de regiões promotora de genes supressores tumorais e genes de reparo de danos ao DNA está relacionada com o silenciamento gênico (CASTRO, 2013).

Algumas regiões do DNA são ricas em dinucleotídeos CpG, essas regiões foram denominadas ilhas CpG. Cerca de 55% dessas ilhas estão situadas nas regiões promotoras. Normalmente essas ilhas CpG são mantidas não metiladas, o que permite o acesso de proteínas e enzimas para realização da transcrição. Em contrapartida, ilhas CpG metiladas relacionam-se com o silenciamento transcricional (Figura 17) (COSTA; PACHECO, 2013).

Figura 17 – Representação esquemática da metilação do DNA em células normais e tumorais.



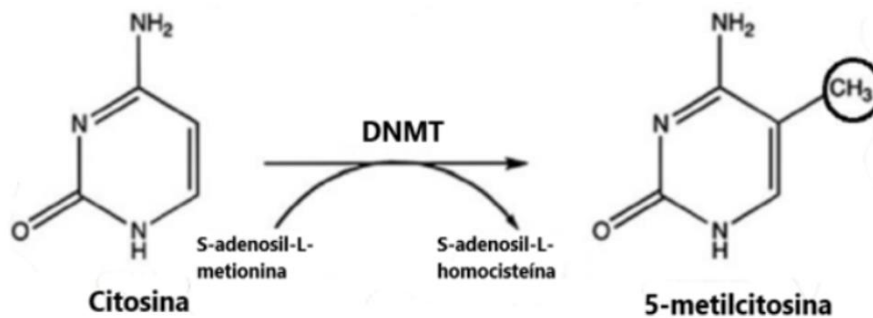
Fonte: Adaptado de (ESTELLER, 2007)

A metilação do DNA é uma modificação que consiste na adição de um grupo metil (CH_3) na posição C-5 da citosina (Figura 18), principalmente em dinucleotídeos

CpG, o que leva à formação de 5-metilcitosina (5-mC). Esta reação é catalisada por enzimas DNA metiltransferases (DNMTs) que reconhecem dinucleotídeos CpG e transferem um grupo metil do doador S-adenosil-L-metionina (SAM) para o átomo de carbono da citosina C5 (LEWANDOWSKA; BARTOSZEK, 2011).

Em mamíferos existem 4 diferentes DNA metiltransferases, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B e a DNMT3L. As enzimas com propriedade catalítica são: DNMT1, DNMT3A e DNMT3B, ou seja, transferem grupo metil para a posição 5 do anel de carbonos da citosina presente em dinucleotídeos CpG. A DNMT1 é a principal enzima responsável pela metilação do DNA durante o processo de replicação (COSTA; PACHECO, 2013)

Figura 18 – Reação de adição do grupo metil à citosina, catalisada por enzima DNMT.



Fonte: Adaptado de (LEWANDOWSKA; BARTOSZEK, 2011)

As DNMT3A e DNMT3B são importantes na metilação do DNA durante o desenvolvimento embrionário, sendo que a DNMT3B parece desempenhar um papel importante na hipermetilação das ilhas CpG localizadas na região promotora dos genes, um possível mecanismo para a inativação de genes supressores tumorais. A DNMT3L, não possui sítio catalítico, portanto ela não realiza metilação, mas atua como co-fator para as enzimas DNMT3 (ARAÚJO, 2015).

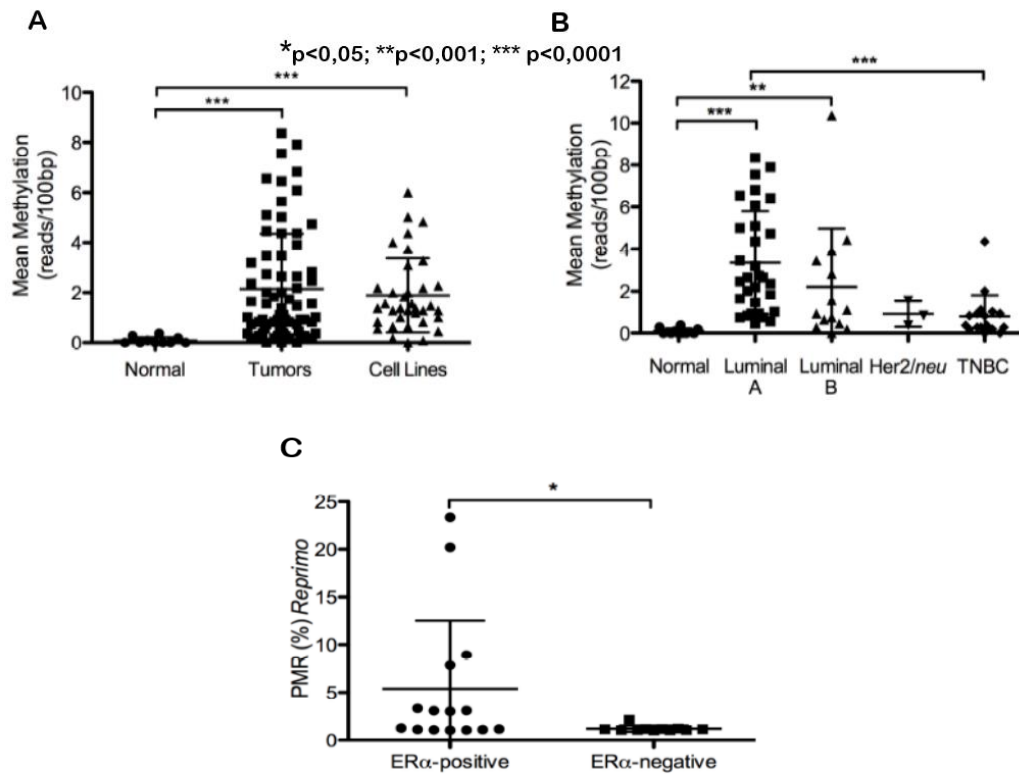
No período de dezembro de 2013 a maio de 2014 foi realizado um estudo com 31 pacientes no Hospital Barão de Lucena em Recife, todas as pacientes possuíam câncer de mama do tipo carcinoma ductal invasivo, sendo que 7 eram

triplos negativos e 24 eram ER positivo. Também foram obtidos tecido mamário saudável de 4 pacientes durante cirurgia oncológica. A idade média dos pacientes foi de 53 anos, 9 declaram histórico familiar de câncer de mama, 19 declaram nenhum caso na família e 10 não puderam responder a esta questão. Verificou-se por meio de PCR em tempo real que os níveis de expressão de DNMT1, DNMT3B foram maiores em tecidos de câncer de mama do que em tecidos mamários saudáveis, sendo que DNMT3B maior do que o nível de DNMT1 e a expressão das DNMTs apresentou uma forte correlação positiva com o gene BRCA1 (ARAÚJO, 2015).

Um estudo realizado com 50 biópsias de mama diagnosticada com carcinoma ductal invasivo de mama proveniente de pacientes atendidas pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, constatou que o padrão de metilação para o gene BRCA2 foi de 46,9% enquanto a frequência de mutações pontuais nos códons 72 (exon 4) e 249 (exon 7) do gene p53 foram de 91,8% e 8,1%, respectivamente. Para o gene BRCA1 os resultados obtidos foram inconsistentes quanto ao seu padrão de metilação. Os resultados mostraram que o polimorfismo no códon 72 do gene TP3 apresentou-se estatisticamente significativo para metástase, assim ele poderia ser utilizado como biomarcador auxiliar no diagnóstico de carcinoma ductal invasivo de mama (RAMALHO, 2012).

O gene Reprimo é um gene supressor de tumor encontrado no cromossomo 2 e codifica uma proteína que regula a transição G2/M por meio do complexo Cdc2-ciclinaB1 induzindo a parada do ciclo celular quando há dano ao DNA, sendo este processo dependente da proteína p53. Em um estudo realizado com as linhagens celulares (T-47D, MDA-MB-231, BT-20, MCF7 e HCC1954) e 87 amostras (sendo 77 de câncer de mama e 10 de tecido mamário normal) coletadas no Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena no Chile, entre 2002–2005, verificou-se que a média de metilação foi maior entre amostras provenientes de tumor quando comparadas com as de tecido normal e linhagens celulares. A hipermetilação de regiões CpG do gene Reprimo, foi predominantemente encontrada nas amostras de câncer de mama subtipo ERα positivo, como no subtipo luminal A e B quando comparado com subtipo Her/neu e triplo negativo (Gráfico 3) (BUCHEGGER et al., 2017).

Gráfico 3 – Análise do nível de metilação do gene Reprimo em tecido normal, tumor e cultura de células.



A: Em tecidos provenientes do câncer de mama há maior metilação quando comparado com tecido normal.

B: Gráfico de dispersão representando a intensa metilação a cada 100 pares de base nos cânceres de mama luminal A em comparação com o subtipo triplo negativos e tecidos normais.

C: Utilizado 26 amostras de câncer de mama. O gráfico apresenta significativa diferença na porcentagem relativa de metilação do gene Reprimo entre câncer de mama com ERα positivo e câncer de mama com ERα negativo. PMR: Porcentagem relativa de metilação

Fonte: Adaptado de (BUCHEGGER et al., 2017)

Ao contrário do que observa-se nas sequências de DNA do genoma, as modificações químicas envolvidas na epigenética são reversíveis, sendo assim um novo campo de estudo que se abre acerca de alterações químicas na cromatina que não modificam a sequência do DNA (LEWANDOWSKA; BARTOSZEK, 2011).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos dados levantados durante este trabalho foi possível concluir que o câncer de mama é um dos cânceres mais comuns no mundo. No Brasil o câncer de mama é o câncer que mais acomete as mulheres.

A classificação dos subtipos clínico-patológicos é feita principalmente através da análise dos receptores de estrógeno, receptores de progesterona, HER2 e o antígeno Ki-67, por meio de imunistoquímica. Os subtipos luminais A e B são os de melhor prognóstico enquanto que os que apresentam superexpressão de HER2 e os triplos negativos possuem pior prognóstico.

Cabe ressaltar que o subtipo triplo negativo é composto por subgrupos como Claudin low e Basal-like, portanto mesmo com a análise imunistoquímica negativa para os ER, PR e HER2, outros genes envolvidos em cada subgrupo são distintos.

Na maioria dos casos de câncer de mama trata-se do câncer de mama esporádico e somente cerca de 10% dos casos são cânceres de mama hereditário. No câncer de mama hereditário os genes BRCA1 e BRCA2 podem estar mutados e suas mutações patogênicas podem gerar proteínas cuja função fique comprometida. Assim, essas não podem se associar a outras proteínas para formar um complexo que atue nos mecanismos de reparo do DNA.

As mutações mais frequentes são verificadas no gene BRCA1, e é justamente a proteína BRCA1 que atua na recombinação homóloga e na recombinação não homóloga. Deve-se ressaltar que as pesquisas em determinadas regiões do Brasil podem não ser representativas devido à alta miscigenação de nossa população.

A proteína p53, transcrita e traduzida do gene TP53 pode ser ativada por meio de vários estímulos e pode mediar respostas distintas por meio de outras proteínas. As mutações e o polimorfismo presentes neste gene podem comprometer a estrutura da proteína e conseqüentemente a sua função.

Os mecanismos epigenéticos estão fisiologicamente presentes no organismo, mas o descontrole de alguns desses mecanismos vem sendo observado, entre eles, existem os ncRNAs que possuem a capacidade de inibir a tumorigênese mamária

enquanto que ncRNAs deste tipo promovem metástases; uma desregulação na quantidade destes ncRNAs pode ser observada em pacientes com câncer de mama.

Além disso, o nível de compactação do DNA depende das reações químicas que ocorrem nas proteínas histonas por meio de enzimas sendo a mais importante a desacetilação das histonas através de HDAC que leva ao silenciamento gênico. As HDAC1 e HDAC2 estão relacionadas com progressão do câncer de mama enquanto que a superexpressão de HDAC2 foi correlacionada com metástases nos linfonodos.

Também, outros mecanismos epigenéticos como metilação do DNA, que se dá através das enzimas DNMTs, vem sendo relatado. A hipometilação global do DNA e a hipermetilação de promotores de genes de reparo está envolvida com o silenciamento gênico.

As alterações epigenéticas são reversíveis diferentemente das alterações genéticas. Este fato estimula muitas pesquisas pois pode ser uma forma de encontrar fármacos que possam reverter tais alterações presentes nos tumores de mama.

REFERÊNCIAS

AIRES, Margarida Melo. **Fisiologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2141-7/cfi/1039!/4/4@0.00:0.00>>. Acesso em: 7 set.2017.

ALBÍZTEGUI, Rosa Elena Ochoa; BALBOA, Paola González; LOZADA, Laura Esther González; CHÁVEZ, Susana Aidé González; CORONA, Rosaura Eugenia Fuentes; PATRACA, Dora Luz Barragán. El papel de los microRNAs (miRNA) en el cáncer de mama. **Anales Médicos**, México, v.59, n. 4, p. 267-270, out. 2014. Disponível em: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2014/bc144f.pdf>>. Acesso em: 11 set.2017.

ARAÚJO, Nara Barbosa. **Análise do perfil de metilação do DNA em pacientes com câncer de mama**. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/bitstream/handle/123456789/13867/DISSERTAÇÃO%20MESTRADO%20NARA%20BARBOSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 2 ago.2017.

BAIRD, Richard D; CALDAS, Carlos. Genetic heterogeneity in breast cancer: the road to personalized medicine? **BMC Medicine**, Londres, v.11, n.151, jun. 2013. Disponível em: <<https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-11-151>>. Acesso em: 6 set.2017.

BEUMER, Ines et al. Equivalence of MammaPrint array types in clinical trials and diagnostics. **Breast Cancer Research and Treatment**. v.156, p. 279-287, mar. 2016. Disponível em: <<http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC5153320/>>. Acesso em: 03 jun.2017.

BRANCHINI, Gisele. **Expressão gênica e proteica das isoformas A e B do receptor de progesterona e expressão proteica do receptor de estrogênio-alfa em amostras de tecido mamário normal e fibroadenomas**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/12209>>. Acesso em: 16 jun.2017.

BRITO, Claudia. **Adesão e persistência à terapia endócrina para o câncer de mama, fatores preditores e resultados relacionados**. 2011. 165f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde

Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/12774>>. Acesso em: 24 mai.2017.

BUHEGGER, Kurt et al. *Reprimo*, a Potential p53-Dependent Tumor Suppressor Gene, Is Frequently Hypermethylated in Estrogen Receptor α -Positive Breast Cancer. **International Journal Molecular Sciences**. v.18, n.8, p.1-14. ago. 2017. Disponível em: <<chrome-extension://oemmnadbldboiebfnladdacbdmfmadm/http://www.mdpi.com/1422-0067/18/8/1525/pdf>>. Acesso em: 23 ago.2017.

CARDOSO, Marilei; FAGANELLO, Taciana R. de Candido; FRIZZO, Matias Nunes Frizz; AVALIAÇÃO DOS MARCADORES IMUNO-HISTOQUÍMICOS DE PACIENTES COM CARCINOMA MAMÁRIO: UMA REVISÃO. **Revista Saúde Integrada**, v.8, n. 15-16. 2015. Disponível em: <<http://local.cneccsan.edu.br/revista/index.php/saude/article/download/229/197>> Acesso em: 17 mar.2017.

CASOLARI, Debora Arcieri. **Interação entre as vias de sinalização do IGF-I, do ER e da integrina β 1 na regulação da transcrição dos genes PHLDA1 e PAWR**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

CASTRO, Rita de Cássia de. **Efeito do ácido docosahexaenoico (DHA) sobre eventos epigenéticos em diferentes linhagens de câncer de mama**.2013. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5155/tde-03102013-094648/pt-br.php>>. Acesso: 27 abr.2017.

CESAR, Paula Gabriela Casa; FONSECA, Fernando Luiz Affonso; GEHRKE, Flávia de Sousa; ALVES, Beatriz da Costa Aguiar; KUNIYOSHI, Renata Kelly; GIGLIO, Auro Del. Utilização de plataforma gênica no prognóstico do câncer de mama. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, São Paulo, v.37, n. 3, p. 154-161, set-dez 2012. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1983-2451/2012/v37n3/a3306.pdf>>. Acesso: 24 fev.2017.

CINTRA, Jane Rocha Duarte; TEIXEIRA, Maria Teresa Bustamante; DINIZ, Roberta Wolp; JUNIOR, Homero Gonçalves; FLORENTINO, Thiago Marinho; FREITAS, Guilherme Fialho de; OLIVEIRA, Luiz Raphael Mota; NEVES, Mariana Teodoro dos Reis; PEREIRA, Talita; GUERRA, Maximiliano Ribeiro. Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama. **Revista de Associação Médica**

Brasileira, Minas Gerais, v. 58, n.2, p.178-187, dez.2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302012000200013>. Acesso em: 16 jul.2017.

CIRQUEIRA, Magno B et al. Subtipos moleculares do câncer de mama. **FEMINA**, Goiânia, v. 39, n.1, p.499-503, out. 2011. Disponível em:< chrome-extension://oemmnadbldboiebfnladdacbdm/adm/http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n10/a2965.pdf>. Acesso em: 11 abr.2017.

COSTA, Everton de Brito Oliveira; PACHECO, Cristiane. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 125-136, jul-dez. 2013. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/5142>>. Acesso em: 8 abr.2017.

CUNHA, Danielle Renzoni. **Estudo de mutações no gene BRCA na população Ashkenazi e não ashkenazi com histórico para câncer de mama e/ou ovário**. 2011.47f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo/ Instituto Butantan/ IPT, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-21032013-170410/pt-br.php>>. Acesso em: 6 mai.2017.

CURY, Nathália Moreno. **Investigação de mutações no gene BRCA1 em famílias brasileiras com suspeita da síndrome hereditária do câncer de mama e/ou ovário**. 2015. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências na especialidade de genética) - Faculdade de medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17135/tde-14062012-134410/ptbr.php>>. Acesso em: 4 mai.2017.

DE ABREU, F. B.; SCHWARTZ, G. N.; WELLS, W. A; TSONGALIS, G. J. Personalized therapy for breast cancer. **Clinical genetics**, Hanover, v. 86, n.1, p. 62–67, jan-mar.2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24635704>>. Acesso em: 7 mar.2017.

DELMONICO, Lucas; ALVES, Gilda; AMARAL, Luiz F. P. A biologia do câncer de mama e testes moleculares de prognóstico. **Revista HUPE**, Rio de Janeiro, v.14, Supl. 1, p. 59-65, ago.2015. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=538>. Acesso em: 19 jun.2017.

ESTELLER, Manel. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. **Nature Reviews Genetics**, Madrid, v.8, p.286-298, abr. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17339880>>. Acesso em: 25 jun.2017.

FAGUNDES, Simone Souza. **Relação do polimorfismo do gene TP53 no códon 72 com câncer de mama: Uma atualização de metanálise (2002-2015)**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2016. Disponível em: <<http://tede2.pucgoias.edu.br:8080/handle/tede/3524>>. Acesso em: 3 jul.2017.

FELICIO, Paula Silva. **Caracterização genética e epigenética do gene BRCA1 e BRCA2 em mulheres brasileiras em risco para câncer de mama hereditário**. 2015. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, 2015. Disponível em: <<http://www.hcancerbarretos.com.br/upload/doc/14783502321d1ea3af32c07f2cc00f24.pdf>>. Acesso em: 16 jun.2017.

FELIX, Gabriela do Espírito Santo. **Estudo de mutações pontuais de BRCA1, BRCA2, CHEK2 e TP53 em pacientes com alto risco para câncer de mama e ovário hereditário**. 88f. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/7634>>. Acesso em: 7 mai. 2017.

FIGUEIREDO, Márcia Cristina Pena. **Câncer de mama hereditário: rastreamento de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 e busca de novos genes de susceptibilidade**. 2014. 117f. Tese (Doutorado em Ciências - Área de concentração: Oncologia) - Fundação Antônio Prudente, São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://accamargo.phlnet.com.br/Doutorado/2014/MarciaCPFigueiredo/MarciaCPFigueiredo.pdf>>. Acesso em: 9 mai.2017.

GERBIN, G.S. The ERBB receptors are a group of receptor tyrosine kinases (RTKs) involved in key cellular functions including cell growth and survival. What are the activation mechanisms particular to ERBBs? **Nature Education**. 2010. v.3, n.9, p35. Disponível em: <<https://sci-hub.cc/https://www.nature.com/scitable/topicpage/activation-of-erbb-receptors-14457210>>. Acesso em: 25 abr.2017.

GIACOMAZZI, Juliana. **Fatores de risco para câncer de mama e polimorfismo nos genes ER, PR e STK15 em mulheres participantes de um programa de rastreamento mamográfico em Porto Alegre**. 2008. 181f. Dissertação (Mestrado

em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/14043>>. Acesso em: 12 mar.2017.

GIACOMAZZI, Juliana. **Prevalência da mutação germinativa TP53 p.R33H em indivíduos com tumores do espectro da síndrome de Li-FRAUMENI**. 2012. 183f. Tese (Doutorado em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/115624>>. Acesso em: 5 mai.2017.

GJOREVSKI, Nikolce; NELSON, Celeste M. Integrated morphodynamic signalling of the mammary gland. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 12, n. 9, p.581-593, ago. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21829222>>. Acesso em: 03 fev.2017.

GOBBI, Heleni. Classificação dos tumores da mama: atualização baseada na nova classificação da Organização Mundial da Saúde de 2012. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.48. n.6, p 463-474, dez 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v48n6/v48n6a13.pdf>>. Acesso em:19 fev.2017.

GOLDHIRSCH, A. et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. **Annals of Oncology**, Londres, v. 22, n. 8, p. 1736-1747, ago. 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/annonc/article/22/8/1736/196756/Strategies-for-subtypes-dealing-with-the-diversity>>. Acesso em: 16 mar.2017.

GOMES, Magda C.B. et al. Prevalência da mutação BRCA1 e BRCA2 em pacientes com câncer de mama em uma população do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**. v. 8, n. 27, p. 24-28, jan/ mar. 2011. Disponível em: <<http://www.sbec.org.br/sbec-site/revista-sbec/pdfs/27/artigo3.pdf>>. Acesso em: 11 fev.2017.

HAHN, Eriza Cristina. **Mutação germinativa tp53 p.arg337his e câncer de mama: análise de prevalência em uma série de pacientes provenientes de um hospital público do rio grande do sul**. 2017. 85f. Dissertação (Mestre em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/163678>>. Acesso em: 14 mai.2017.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. **Hallmarks of cancer: The Next Generation**. Cell, Estados Unidos da América, v.144, mar. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376230>>. Acesso em: 13 jun2017.

HIRATA, Bruna Karina Banin; ODA, Julie Massayo Maeda; GUEMBAROVSKI, Roberta Losi; ARIZA, Carolina Batista; OLIVEIRA, Carlos Eduardo Coral de; WATANABE, Maria Angelica Ehara. Molecular markers for breast cancer: prediction on tumor behavior. **Disease markers**, Londrina, jan. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/dm/2014/513158/>>. Acesso em 19 mar.2017.

INCA. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA, 2015. ISBN 978-85-7318-283-5. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 26 jan.2017.

KLASSEN, Liliane Maria Bacaro. **Metilação do DNA e marcas de histonas H3K4m3 E H3K27m3 em intron regulam a expressão do gene MMP9 em câncer de mama**. 2016. 86f. Tese (Doutorado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/46087>>. Acesso em: 30 jun. 2017.

KUMAR, Vinnay et al; **Robbins & Cotran. Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1458 p.

LEWANDOWSKA, Joanna; BARTOSZEK, Agnieszka. DNA methylation in cancer development, diagnosis and therapy - multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. **Mutagenesis**, Polônia, v.26, n.4, p.475–87, mai.2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21551264>>. Acesso em: 02 jul.2017.

MASKEY et al. MicroRNA-340 inhibits invasion and metastasis by downregulating ROCK1 in breast cancer cells. **ONCOLOGY LETTERS** China, v.14, p.2261-2267, abr.2017. Disponível em: <<http://sci-hub.io/10.3892/ol.2017.6439>>. Acesso em 18 set.2017.

MARMOR, Mina D; KOCHUPURAKKAL, Bose S; YARDEN, Yosef. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. **I. J. Radiat Oncol Biol Phys**, Estados Unidos, v. 58, n. 3, p. 903–913, jun. 2003. Disponível em: <[http://www.redjournal.org/article/S0360-3016\(03\)02097-2/fulltext](http://www.redjournal.org/article/S0360-3016(03)02097-2/fulltext)>. Acesso em: 9 set.2017.

MARTINS, Luhan Chaveiro et al. Padrão de metástase no câncer de mama triplo negativo. **Revista Brasileira de Mastologia**, Goiânia, v.27, n.1, p. 8-14, ago.2017. Disponível em: <http://www.rbmastologia.com.br/wp-content/uploads/2017/01/MAS-v27n1_8-14.pdf>. Acesso em: 26 mar.2017.

MATOS, Wanessa Lobo et al. Mammaprint: uma análise sobre a moderna ferramenta de auxílio no tratamento do câncer de mama. **Revista de Patologia do Tocantins**, v.4, n.2, p.10-14, jun. 2017. Disponível em: <<https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/3510>>. Acesso em: 20 ago.2017.

MELO, Márcia Portela de. **Análise do polimorfismo R72P do gene TP53 em pacientes com carcinoma de mama ductal invasor**. 2008. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/13063>>. Acesso em: 17.mai. 2017.

MENEGHETTI, Bruna Valandro. **Efeitos de proteínas p53 mutantes associadas à síndrome de LiFraumeni na viabilidade celular em condições basais e sob estresse genotóxico**. 2017. 56f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/163707>>. Acesso em: 21 mai. 2017.

MONTANHER, Ana Paula; BODA, Maíra; RIBEIRO NETO, Luciane M. **Epigenética – alterações induzidas por agentes químicos**. In: SIMPÓSIO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA, III, 2015, São Paulo. Disponível em: <http://www.saocamillo-sp.br/novo/eventos-noticias/saf/2015/SAF028_15.pdf>. Acesso em 9 set.2017.

MULAC-JERICEVIC, Biserka; CONNEELY, Orla M. Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors **Reproduction**. V.128, p. 139–146, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15280552>>. Acesso em: 7 set.2017.

PAULA, Leonardo Barcelos de; SANTOS, Rodrigo da Silva; LIMA, Patrícia de Sousa; PAULA, Nathalie Martelli de; REIS, Ângela ADAMSKI DA Silva. **Os gens BRCA1 e BRCA2 e suas relações genéticas na predisposição aos carcinomas mamários hereditários e esporádicos**. Goiânia, v.39, n.2, p.199-208. abr/jun.2012. Disponível em: <<http://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/download/2603/1602>>. Acesso em: 14 fev.2017.

PERES, Raquel Mary Rodrigues. **Instabilidade Genômica em neoplasias malignas da mama em função da concentração de alumínio intracelular**. 2013, 97f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - UNICAMP, Campinas, 2013. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/bvsecuador/resource/pt/lil-706177>>. Acesso em: 11 jun. 2017.

PLAKHINS, Grigorijs et al. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia. **BMC Medical Genetics**, v.12, n. 147, p.1-8. 2011. Disponível em: <<https://bmcmmedgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2350-12-147>>. Acesso em: 15 jun. 2017.

POLYAK, K.; KALLURI, R. The role of the microenvironment in mammary gland development and cancer. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**. v.2, n.11, p.a003244, nov.2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20591988> >. Acesso em: 2 fev. 2017.

PRAT, Aleix; PARKER, Joel S; KARGINOVA, Olga; FAN, Cheng; LIVASY, Chad; HERSCHKOWITZ, Jason I; HE, Xiaping; PEROU, Charles M. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 12, n. R68, set. 2010. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.com/content/12/5/R68>>. Acesso em: 24 abr.2017.

RAMALHO, Eduardo Augusto Vasconcelos de Freitas. **Avaliação alterações nos genes p53, BRCA1 e BRCA2 em Carcinoma Ductal Invasivo de Mama (CDI)**. 2012. 46f. Dissertação (Mestrado em Biologia Aplicada à Saúde). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/10853>>. Acesso em: 2017.

ROSIM, Mariana Papaléo. **Influência da deficiência ou suplementação com selênio durante o período gestacional de ratas na suscetibilidade da progênie feminina à carcinogênese mamária**. 2015. 108 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9132/tde-28042016-110618/pt-br.php>>. Acesso em: 24 mar.2017.

ROY, Rohini; CHUN, Jarin; POWELL, Simon N. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. **NATURE REVIEWS**. v. 12, jan 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22193408>>. Acesso em: 28 mai.2017.

SCHOOFF, Cláudia Regina Gasque. **Análise da função dos microRNAs na regulação da expressão de DNMT3B/Dnmt3b e MECP2/Mecp2**. 2011. 248f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Biologia) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-23082012-093806/pt-br.php>>. Acesso em: 2 set.2017.

SERRA, Katia Piton et al. Nova classificação dos carcinomas da mama: procurando o luminal A. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. Campinas, v.36, n.12, p.575-80 set./out.2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v36n12/0100-7203-rbgo-36-12-0575.pdf>>. Acesso em: 24 abr.2017.

SERRA, Katia Piton. **Subtipos clínico-patológicos de carcinoma de mama e sua relação com a expressão da COX2 e da p53**. 2014. 121f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde na especialidade de oncologia ginecológica e mamária) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2014. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/313100/1/Serra_KatiaPiton_D.pdf>. Acesso em: 15abr.2017.

SILVA, Ana Carolina Japur de Sá Rosa; LARA, Lucia Alves da Silva. Moduladores seletivos dos receptores da progesterona: revisão da literatura. **Femina**. Ribeirão Preto, v.39, n.12, p.543 -548, dez. 2011. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n12/a2973.pdf>>. Acesso em: 3 mar. 2017.

SILVA, Suely Vieira da. **Influência do estrógeno, progesterona e testosterona nos níveis de expressão e na distribuição de ADAMTS-1 (uma desintegrina e metaloproteinase com domínios trombospondinas 1) em células mamárias humanas normais e tumorais**. 2014. 103f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42134/tde-19022015-164340/pt-br.php>>. Acesso em: 16 jun. 2017.

SOUZA, Marilene Alícia; FONSECA, Angela Maggio da; BAGNOLI, Vicente Renato; JUNIOR, José Maria Soares; BARROS, Nestor; FRANZOLIN, Solange de O. B.; BARACAT, Edmund Chada. Polimorfismo do gene do receptor estrogênico como fator de risco do câncer de mama. **FEMINA**. São Paulo, v. 40, n. 4, p. 179-186, jul/ago. 2012. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2012/v40n4/a3362.pdf>>. Acesso em: 5 abr.2017.

TABY, Rodolphe; ISSA, Jean-Pierre J.; Cancer Epigenetics. **CA CANCER J CLIN** 2010; v.60, n. 6, p. 376–392, nov/dez. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20959400>>. Acesso em: 18 jun. 2017.

TORDONATO, Chiara; FIORE, Pier Paolo Di; NICASSIO, Francesco. The role of non-coding RNAs in the regulation of stem cells and progenitors in the normal mammary gland and in breast tumors. **Frontiers in Genetics**. Milão, v. 6, n.72, p. 1-16, fev.2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25774169>>. Acesso em: 6 set.2017.

VILAR, Juliana Brandstetter. **Mecanismos de reparo de DNA envolvidos com lesões induzidas por agente alquilante (Nimustina) em células humanas e sua associação com a resistência de gliomas**. 2014 185f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-24022015-105346/pt-br.php> >. Acesso em: 15 jun. 2017.

WHATSON, C. J; KHALED, W.T. Mammary development in the embryo and adult: a journey of morphogenesis and commitment. **Development (Cambridge, England)**, v.135, n.6, p.995-1003, mar.2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18296651>>. Acesso em: 30 mar.2017.

WHO. **World Cancer Report 2014**. Lyon: World Health Organization; 2014. p. 630. Disponível em: <<http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014> >. Acesso em:6 jun. 2017.

YOUNG, S R, et al. The prevalence of BRCA1 mutations among young women with triple-negative breast cancer. **BMC Cancer**, Londres, v.9, n.86, p 1-5, 2009. Disponível em: <<https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-9-86>>. Acesso em: 6. jun.2017.

YUNDA, Diego Fernando Uribe; MANCERA, Fabián M. Cortes. Metilación del ADN: implicaciones en carcinogénesis. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**. Havana, v. 33, n.1, p.81-93, mar. 2014. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403002014000100009&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 20 jul. 2017.

ZHAO, H. et al. HDAC2 overexpression is a poor prognostic factor of breast cancer patients with increased multidrug resistance-associated protein expression who received anthracyclines therapy. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, Japão,

v.46, n.10, p. 893-902, jul. 2016. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27432453>>. Acesso em:19 jul. 2017.

ANEXO A – Classificação histológica do câncer de mama

Tumores epiteliais

Na “Classificação de Tumores da Mama da Organização Mundial da Saúde” são descritos 9 tipos especiais e suas variantes e 11 tipos muito raro, além do carcinoma ductal invasivo sem outra especificação (CDI-SOE), presentes nos quadros 1 e 2.

Tumores metaplásicos

Trata-se de um grupo com grande heterogeneidade, no quadro 1 há a subclassificação. O diagnóstico diferencial é auxiliado por imunoistoquímica para citoqueratinas e p63 onde cora-se positivamente as células fusiformes tumorais. A tendência dos carcinomas metaplásico é de recidiva local do que sistêmica e o melhor prognóstico é verificado no subtipo fibromatose-símile e adenoescamoso (GOBBI, 2012).

Carcinomas com característica medulares

Há 3 subtipos de carcinoma medulares e a maioria são triplo negativo (receptores hormonais e receptores do fator de crescimento epidérmico humano 2 negativos) e de fenótipo basal. Expressam CK, actina de músculo liso, p53, caveolina e receptor do fator de crescimento epidérmico. As alterações no gene BRCA1 são verificados em 13% dos pacientes (GOBBI, 2012).

Quadro 1 - Tipos de tumores epiteliais segundo a 4ª edição da Classificação Histológica de Tumores da Mama da OMS.

4ª edição (2012)
Carcinoma microinvasivo
Carcinoma mamário invasivo
Carcinoma ductal invasivo
Carcinoma tipo misto
Carcinoma pleomórfico
Carcinoma com células gigantes tipo osteoclasto
Carcinoma com elementos coriocarcinomatosos
Carcinoma com elementos melanóticos
Carcinoma lobular invasivo
Carcinoma lobular clássico
Carcinoma lobular sólido
Carcinoma lobular alveolar
Carcinoma lobular pleomórfico
Carcinoma túbulo-lobular
Carcinoma lobular misto
Carcinoma tubular
Carcinoma cribriforme invasivo
Carcinoma com elementos medulares
Carcinoma medular
Carcinoma medular atípico
Carcinoma invasivo SOE com elementos medulares
Carcinoma mucinoso

Quadro 1 - Tipos de tumores epiteliais segundo a 4ª edição da Classificação Histológica de Tumores da Mama da OMS.

4ª edição (2012)
Carcinoma com diferenciação em células em anel de sinete
Carcinoma micropapilar invasivo
Carcinoma com diferenciação apócrina
Carcinoma metaplásico sem tipo especial
Carcinoma adenoescamoso de baixo grau
Carcinoma metaplásico fibromatose-símile
Carcinoma de células escamosas
Carcinoma de células fusiformes
Carcinoma metaplásico com diferenciação mesenquimal
Diferenciação condroide
Diferenciação óssea
Diferenciação em outros tipos mesenquimais
Carcinoma metaplásico misto
Carcinoma mioepitelial

Fonte: Adaptado de (GOBBI, 2012)

Lesões proliferativas intraductais

Grupo heterogêneo de proliferações epiteliais presente no quadro 3, esta terminologia poderá ser modificada quando novos dados moleculares e genéticos forem adicionados na classificação.

Quadro 2 - Tumores epiteliais raros segundo a 4ª edição da classificação Histológica de Tumores da Mama da OMS, 2012.

Tipos raros de carcinomas invasivos da mama
Carcinoma com elementos neuroendócrinos Tumor neuroendócrino bem diferenciado Carcinoma neuroendócrino pouco diferenciado (Carcinoma de pequenas células) Carcinoma com diferenciação neuroendócrina
Carcinoma secretor
Carcinoma papilar invasivo
Carcinoma de células acinares
Carcinoma mucoepidermoide
Carcinoma oncocítico
Carcinoma rico em lípidos
Carcinoma de células claras rico em glicogênio
Carcinoma sebáceo
Tumores tipo glândula salivar/anexo cutâneos Cilindroma Hidroadenoma de células claras

Fonte: Adaptado de (GOBBI, 2012)

Lesões de células colunares e atipia epitelial plana

Foram divididas em dois grupos: lesões de células colunares e atipias epiteliais planas (Quadro 3).

Quadro 3 - Lesões proliferativas intraductais e lesões precursoras da 4ª edição da Classificação Histológica de Tumores da mama da OMS.

4ª edição (2012)
Lesões precursoras
Carcinoma ductal <i>in situ</i> Neoplasia lobular Carcinoma lobular <i>in situ</i> Carcinoma lobular <i>in situ</i> clássico Carcinoma lobular <i>in situ</i> pleomórfico
Hiperplasia lobular atípica
Lesões proliferativa intraductais
Hiperplasia ductal usual
Lesões de células colunares Atipia epitelial plana
Hiperplasia ductal atípica
Carcinoma ductal <i>in situ</i>

Fonte: Adaptado de (GOBBI, 2012)

Lesões de células colunares

As lesões de células colunares (LCC) referem-se a alterações de células colunares e hiperplasia de células colunares sem atipias, pode afetar as unidades ducto lobulares terminais. Verifica-se com frequência secreção luminal, microcalcificações e cistos. As LCC geralmente apresentam positividade para receptores hormonais e são negativas para HER2.

Atipia epitelial plana

Trata-se de alterações neoplásicas das unidades ducto lobulares terminais, frequentemente com presença de secreção e microcalcificações. Alguns estudos sugerem que essa atípia epitelial plana pode evoluir para carcinoma invasor (GOBBI, 2012).

Neoplasia lobular

A neoplasia lobular engloba a unidade ducto lobular terminal e é caracterizada por células pequenas, uniformes, redondas e sem coesão celular. Alterações genômicas típicas das neoplasias lobulares invasoras são perda no braço longo do cromossomo 16 e ganho no braço longo do cromossomo 1 e há perda na expressão de E-caderina. Essa perda pode auxiliar na diferenciação entre os carcinomas ductal *in situ* e carcinoma lobular *in situ* (CLIS) pleomórfico. O diagnóstico deve abordar a imunocoloração juntamente com a topografia das lesões (GOBBI, 2012).

Outros Tumores

Os tumores epiteliais/mioepiteliais, as neoplasias papilares, as proliferações epiteliais benignas e os tumores mesenquimais possuem subclassificações e os critérios podem ser analisados no documento original da Organização Mundial da Saúde – Classificação dos tumores de mama 4.ed.