

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de biomedicina

Bruna Martinez de Freitas

EPIGENÉTICA DO CÂNCER DE MAMA

SÃO PAULO

2023

Bruna Martinez de Freitas

EPIGENÉTICA DO CÂNCER DE MAMA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Ms. Rodrigo Alessandro Reimma Vela, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

SÃO PAULO

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Freitas, Bruna Martinez de

Epigenética do câncer de mama / Bruna Martinez de Freitas. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.
48 p.

Orientação de Rodrigo Alessandro Reimma Vela.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação),
Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Epigenômica 2. Histonas 3. Metilação 4. Neoplasias da mama
5. RNA longo não codificante I. Vela, Rodrigo Alessandro Reimma

RESUMO

O câncer de mama é uma doença genética multifatorial que tem origem no crescimento desordenado de células da mama. Pode sofrer influência de fatores ambientais, genéticos, hormonais e comportamentais. O crescimento desordenado está relacionado à fatores genéticos e epigenéticos, como a metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs não codificantes. Ademais, concluiu-se que alterações na maquinaria genética e processos como a metilação resultam em alterações de genes e proteínas, tal fato é responsável por causar uma proliferação descontrolada, superexpressão de genes, alteração do controle da regulação e do reparo do DNA, apoptose e, por fim, a metástase. A metodologia utilizada para realização desse trabalho de revisão bibliográfica constituiu na revisão de bases de dados: PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Google Scholar. Posto isso, a classificação do câncer visa fornecer um diagnóstico precoce por meio do estadiamento, esse sistema baseia-se no Sistema TNM de classificação dos tumores malignos, além da classificação histológica, molecular e em relação a sua capacidade de disseminação. Todos os tipos de classificação tem em vista melhorar o prognóstico do paciente, a probabilidade de cura, sobrevida e qualidade de vida. Esta revisão de literatura tem como objetivo compilar e discutir as alterações epigenéticas descritas na literatura especializada, associadas aos vários aspectos e tipos de câncer de mama, a fim de utilizar a epigenética como auxílio na prevenção, prognóstico e diagnóstico da doença, além de ser proficiente na ampliação do conhecimento ao tema.

Palavras chaves: câncer de mama, metilação, modificações de histonas, RNAs não codificantes, genes, metástase, epigenética.

ABSTRACT

Breast cancer is a multifactorial genetic disease that originates from the disordered growth of breast cells. It can be influenced by environmental, genetic, hormonal and behavioral factors. Disordered growth is related to genetic and epigenetic factors, such as DNA methylation, histone modifications and non-coding RNAs. Furthermore, it was concluded that changes in the genetic machinery and processes such as methylation result in changes in genes and proteins, which is responsible for causing uncontrolled proliferation, overexpression of genes, changes in the control of DNA regulation and repair, apoptosis and , finally, metastasis. The methodology used to carry out this bibliographic review work consisted of reviewing databases: PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Google Scholar. That said, cancer classification aims to provide an early diagnosis through staging. This system is based on the TNM System for classifying malignant tumors, in addition to histological, molecular classification and in relation to their ability to spread. All types of classification aim to improve the patient's prognosis, the probability of cure, survival and quality of life. This literature review aims to compile and discuss the epigenetic changes described in specialized literature, associated with the various aspects and types of breast cancer, in order to use epigenetics as an aid in the prevention, prognosis and diagnosis of the disease, in addition to being proficient in expanding knowledge on the topic.

Key words: breast cancer, methylation, histone modifications, non-coding RNAs, genes, metastasis, epigenetics.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, minha mãe e irmão por todo amor, incentivo e apoio incondicional ao longo desses anos.

Ao meu namorado, Giovani, por todo o apoio, companheirismo, por não me deixar desistir e sempre estar ao meu lado.

Aos meus amigos, Gabriela, Julia, Marcos, Luiz e Letícia, por terem feito esses quatro anos serem mais leves e divertidos, obrigada por todos os momentos ao longo da graduação.

Às antigas amigas, Yasmin e Beatriz, obrigada por estarem ao meu lado desde a escola.

Aos professores do curso de Biomedicina, obrigada por dedicarem seu tempo e conhecimento pela minha formação acadêmica.

Ao meu orientador, Prof. Ms. Rodrigo Alessandro Reimma Vela, agradeço imensamente pelo auxílio, incentivo, confiança e paciência ao longo desse ano.

À todos que de alguma forma acreditaram e torceram pelo meu sucesso.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Histologia mamária normal. Coloração feita com eosina e hematoxilina da glândula mamária em fase de repouso. Na fase de repouso a glândula é constituída principalmente por tecido conjuntivo e adiposo.7

Figura 2 - Representação da anatomia da mama feminina. Na imagem à esquerda, estão representadas estruturas externas da mama, como aréola e mamilo; além dos linfonodos. À direita, a estrutura interna, com destaque para os lóbulos e ductos e tecidos.7

Figura 3 - Representação da fosforilação oxidativa, glicólise anaeróbica e glicólise aeróbica (efeito Warburg). 16

Figura 4 - Representação da biogênese dos miRNAs, com foco no pri-miRNA e na sua estrutura de hairpin..... 20

Figura 5 - Biogênese dos miRNAs, processo mediado por enzimas e complexos proteicos. Inicia-se no núcleo e termina no citoplasma, onde por fim, teremos miRNAs maduros capazes de desempenhar sua função.22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - A tabela aponta a categoria BI-RADS®, achados mamográficos, o risco de câncer e a conduta a ser tomada. 10

Tabela 2- Relação entre os subtipos de câncer de mama e os miRNAs relacionados.23

LISTA DE SIGLAS

5hmC	5 hidroximetilcitosina
5mC	5 metil-citosina
ABCB1	Proteína de resistência a múltiplos fármacos 1/MDR1/Glicoproteína-P/Pgp (<i>"multidrug resistance 1/P-glycoprotein"</i>)
ABCG2	<i>"ATP binding cassette subfamily G member 2"</i>
ADAM12	Domínio 12 da metalopeptidase ADAM
AGO	Proteína Argonauta
AKT	Proteína quinase B
APC	Polipose adenomatosa coli
ATP	Adenosina trifosfato
BLBC	Câncer de mama do tipo basal
BRCA1	Gene 1 do câncer de mama
BRCA2	Gene 2 do câncer de mama
BTG2	Gene de translocação de células B
CDH1	Caderina 1
CDKN2A	Inibidor de quinase dependente de ciclina 2A
CLI	Carcinoma lobular invasivo
CO ₂	Dióxido de carbono
CpG	Citocina precedendo guanina
DGCR8	Região crítica do gene 8 na síndrome DiGeorge (<i>"DiGeorge syndrome critical region gene-8"</i>)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMT	DNA metiltransferases
E2	Estrogênio
EAA	Aminoácidos essenciais
ERK-MAPK	Via de sinalização
ER α	Receptor de estrogênio alfa
ESR1	Receptor de estrogênio α

ESR2	Receptor de estrogênio β
GLUT1	Transportador de glicose 1
GLUT3	Transportador de glicose 3
GNAT	Família N-acetiltransferases
GSTM2	Glutathione S-transferase Mu 2
GSTP1	Glutathione S-transferase pi 1
H34ac	Acetilação na lisina 4 da histona 3
H4K16	Lisina monoacetilada 16 da histona H4
HAT	Histonas acetiltransferases
HDAC	Histonas desacetilases
HDAC2	Histona desacetilase 2
HER	Receptor epidérmico humano
HER2	Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano
HPV	Papilomavírus humano
IDC	Carcinoma ductal invasivo
IDC-NST	Carcinoma ductal invasivo do tipo não especial
KCNK9	Canal de domínio de dois poros de potássio
LINE-1	Elemento 1 não codificante de longa disseminação
LSD1	Desmetilase lisina-específica 1
M2PK	Piruvato quinase M2
MCT	Monocarboxilato
miRNA	Micro RNA
NEAA	Aminoácidos não essenciais
OXPHOS	Fosforilação oxidativa
P53	Proteína no gene supressor p53
PHGDH	3-fosfoglicerato-desidrogenase
Pri-miRNA	Micro RNA primário
PTEN	Homólogo de fosfatase e tensina
RASSF1	<i>"Ras association domain family member 1"</i>
RE	Receptores de estrogênio
RISC	Complexo de silenciamento induzidos por RNA

RNA	Ácido ribonucleico
RP	Receptor de progesterona
SIPA1	Proteína associada à proliferação induzida por sinal
SIRT1	Sirtuina 1
TCA	Ciclo do ácido tricarboxílico
TET	Enzimas de desmetilação do DNA
TGF β	Fator de crescimento transformador beta
TNBC	Câncer de mama triplo negativo
TTN	Tumores triplo-negativos
UICC	União Internacional Contra o Câncer
UTR	Regiões não codificantes do <i>mRNA</i> (<i>untranslated region</i>)
XPO5	Complexo exportina 5
YAP1	Proteína associada a Yes-1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO	4
3	METODOLOGIA	5
4	DESENVOLVIMENTO	6
4.1	CLASSIFICAÇÃO DO CÂNCER DE MAMA	9
4.2	FISIOPATOLOGIA DO CÂNCER DE MAMA	15
4.3	MECANISMOS GENÉTICOS E EPIGENÉTICOS DO CÂNCER DE MAMA	18
4.3.1	MICRO RNAS	19
4.3.2	METILAÇÃO DO DNA	23
4.3.3	MODIFICAÇÕES DE HISTONAS	26
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30

1 INTRODUÇÃO

Câncer é um termo que abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas que têm em comum o crescimento desordenado de células que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos. É uma doença complexa que surge a partir de uma multiplicação desordenada de células mutadas geneticamente. (INCA, 2022). O seu desenvolvimento possui múltiplos fatores envolvidos, como: aspectos ambientais, genéticos, hormonais e de estilo de vida, que estarão relacionados, por meio de diversos mecanismos em comum, e irão definir o prognóstico, o tratamento e a evolução clínica da doença. (ADRASKELA et al., 2017)

Ademais, o câncer de mama é um dos mais diagnosticados em mulheres no mundo e o que tem maior taxa de mortalidade. No Brasil, esse tipo de câncer é o mais incidente em mulheres de todas as regiões, com taxas mais altas nas regiões Sul e Sudeste. Para o ano de 2022 foram estimados 66.280 casos novos, o que representa uma taxa de incidência de 43,74 casos por 100.000 mulheres (INCA, 2019).

Para tal, fatores ambientais, predisposição genética familiar, terapia de reposição de estrogênio e exposição prolongada à radiação em altas doses estão relacionados à incidência desse tipo de câncer. Pacientes com defeitos genéticos, como mutação na proteína do gene supressor p53 (P53), gene 1 do câncer de mama (BRCA1) e gene 2 do câncer de mama (BRCA2), e aqueles com histórico familiar de câncer de mama ou de ovário têm maior probabilidade de desenvolver câncer de mama. (ZHANG, M. et al., 2021)

Segundo LI (2020):

Epigenética refere-se às modificações moleculares no DNA que podem regular a atividade genética são independentes da sequência do ácido desoxirribonucleico (DNA) e mitoticamente estáveis. (LI, 2020)

Notavelmente, os estudos epigenéticos cresceram exponencialmente nos últimos anos e as mais reconhecidas são a metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs não codificantes (ncRNAs). Esta área está profundamente relacionada com a incidência e prevalência de doenças adquiridas ou desenvolvidas por algum fator determinante, tanto que cientistas puderam provar seu envolvimento com diversos tipos de câncer, pois

as células tumorais apresentam, por exemplo, padrões de metilação alterados, ou mesmo, alteração na configuração das histonas, sendo ambos promissores indicadores para o diagnóstico de câncer (ATUATI; ANDRADE; DIEL, 2021)

Dessa forma, as alterações epigenéticas que regulam as alterações hereditárias são críticas para o desenvolvimento de todos os cânceres humanos. Nas alterações epigenéticas, podem ser observados padrões anormais de metilação do DNA, padrões interrompidos de modificações pós-traducionais de histonas e alterações na composição e organização da cromatina. Essas mudanças no epigenoma ocorrem em grande parte devido à interrupção da maquinaria epigenética, à qual compreende DNA envolvido com histonas em um nucleossomo. Mutações em genes de sinalização (oncogenes) são frequentemente dominantes em muitos cânceres humanos e levam à formação de cânceres. (NIRMALADEVI, 2020).

Rodrigues, A. H. F. et al (2019) relatam que existem 3 principais modificações epigenéticas: a metilação do DNA, modificação e histonas e microRNAs. A metilação do DNA é a modificação mais conhecida. Ela envolve a adição de grupo metila ao quinto carbono da citosina – base nitrogenada presente no DNA. Esse processo é crucial para o desenvolvimento normal da célula, sua proliferação e manutenção da estabilidade gênica. Outrossim, as modificações de histonas podem sofrer metilação, acetilação, fosforilação e ubiquitinação. Elas desestabilizam as interações entre histonas e DNA e influenciam o processo de transcrição gênica e, devido a isso podem ser associadas a malignidade e metástase. Já os microRNAs são uma classe de RNAs não codificantes curtos, iniciados endogenamente, que controlam pós-transcricionalmente a expressão gênica por meio de repressão translacional ou degradação de mRNA. Está se tornando evidente que os miRNAs estão desempenhando papéis significativos nos mecanismos regulatórios que operam em vários organismos, incluindo o tempo de desenvolvimento e as interações patógeno-hospedeiro, bem como a diferenciação celular, proliferação, apoptose e tumorigênese. (CAI et al., 2009).

As medidas de tratamento para o câncer de mama dependem do subtipo molecular. O câncer de mama pode ser dividido em cinco subtipos com base na expressão do receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP), receptor-2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) e outros biomarcadores - Luminal A e

Luminal B. (MA et al., 2023). Diante disso, a classificação do câncer é importante pois visa fornecer um diagnóstico preciso da doença e prever o comportamento do tumor para facilitar a tomada de decisão oncológica. (TSANG; TSE, 2019)

2 OBJETIVO

PRINCIPAL

O presente estudo tem como objetivo identificar e descrever os mecanismos epigenéticos envolvidos na carcinogênese mamária, além de apresentar a fisiopatologia do câncer de mama.

ESPECÍFICOS

- Apresentar os efeitos da metilação do DNA, modificação de histonas e microRNAs na expressão de genes supressores do tumor.
- Caracterizar as alterações e fisiopatologia do câncer de mama.

3 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão narrativa da literatura sobre os mecanismos epigenéticos e genes descritos no câncer de mama a partir de 1998. Para a seleção de textos foram utilizadas as bases de dados, tais como: PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Google Scholar.

Foram utilizados os seguintes descritores em saúde: fatores de risco, câncer de mama, histologia, miRNA, metilação, anatomia, mama, classificação, estadiamento, fisiopatologia, efeito Warburg, glicólise, epigenética, HER2+, TNBC, hipermetilação, hipometilação, acetilação, fosforilação, glicosilação, ubiquitinação, metástase, genética, diagnóstico, biomarcadores.

A pesquisa abrangeu 63 estudos que constituíam análises genéticas com foco na epigenética, envolvidas no processo do câncer de mama, sendo publicados entre os anos de 1998 e 2023, nos idiomas português e inglês.

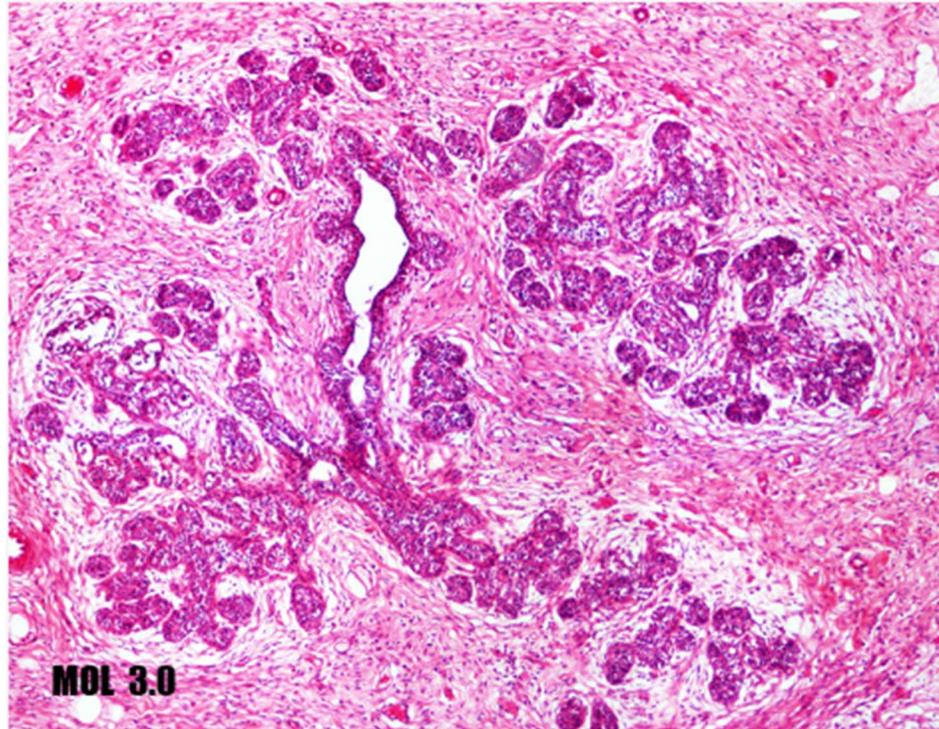
4 DESENVOLVIMENTO

As mamas são estruturas anexas à pele especializadas na produção de leite. Existem em ambos os sexos mas são rudimentares nos homens. Nas mulheres desenvolvem-se e diferenciam-se na puberdade, atingindo o seu maior desenvolvimento na gravidez e na lactação. (ÓRFÃO; GOUVEIA, 2009). Essas glândulas exócrinas estão localizadas na parte anterior do tórax, entre o esterno e a linha axilar média e estão apoiadas sobre o músculo peitoral maior. (MCGHEE; STEELE, 2020).

Os três principais hormônios que afetam a mama são o estrogênio, a progesterona e a prolactina, que causam alterações no tecido glandular da mama e do útero durante o ciclo menstrual. Os estrogênios são responsáveis pelo controle das funções do sistema reprodutor feminino, bem como pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias que aparecem durante a puberdade e a maturidade sexual. Os estrogênios exercem suas ações ligando-se a receptores específicos, os receptores de estrogênio (REs), que por sua vez ativam processos transcricionais e/ou eventos de sinalização que resultam no controle da expressão gênica (FUENTES; SILVEYRA, 2019). Já a progesterona permite a transição endometrial do estágio proliferativo para o secretor, facilita a nidificação do blastocisto e é essencial para a manutenção da gravidez. Além de desempenhar um papel importante em vários tecidos não pertencentes ao sistema reprodutor, como a glândula mamária em preparação para a amamentação, o sistema cardiovascular, o sistema nervoso central e os ossos. (TARABORRELLI, 2015). A prolactina, junto com o estrogênio e a progesterona, orchestra os ciclos de desenvolvimento e diferenciação mamária que levam a uma lactação bem-sucedida. (SCHULER; O'LEARY, 2022)

A mama é composta por pele e tecido subcutâneo, parênquima mamário, que é composto por ductos e lóbulos, tecido adiposo e conjuntivo (figura 1), conhecido como estroma de suporte, incluindo gordura interposta em uma complexa rede de ligamentos, nervos, artérias e veias e vasos linfáticos. (JESINGER, 2014). O tecido adiposo distribui-se imediatamente abaixo da pele (tecido adiposo subcutâneo), no interior da glândula mamária (intraglandular) e atrás do tecido glandular (retromamário) à frente do músculo peitoral. (ÓRFÃO; GOUVEIA, 2009)

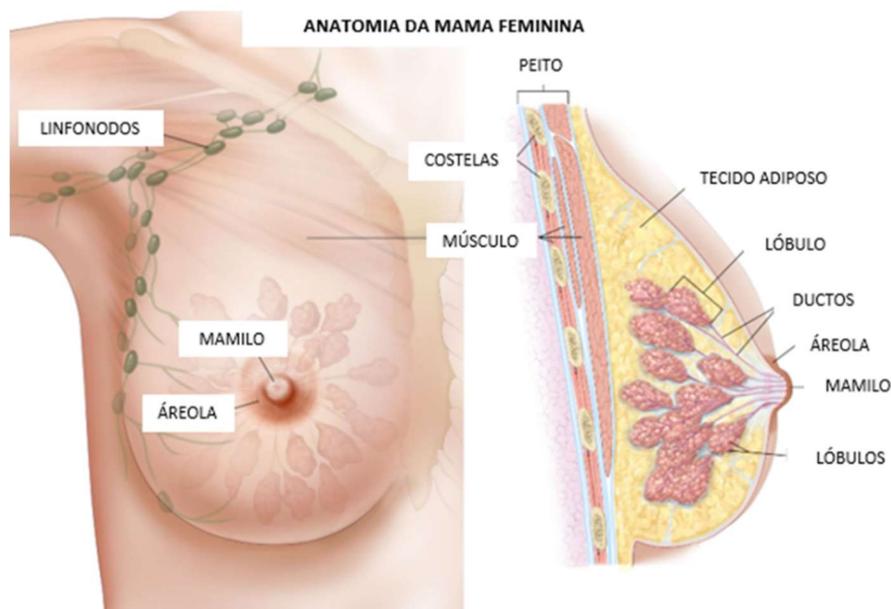
Figura 1 - Histologia mamária normal. Coloração feita com eosina e hematoxilina da glândula mamária em fase de repouso. Na fase de repouso a glândula é constituída principalmente por tecido conjuntivo e adiposo.



FONTE: **Aparelho reprodutor feminino**. Disponível em: <<https://mol.icb.usp.br/index.php/20-33-aparelho-reprodutor-feminino/>>.

Os ácinos ou alvéolos mamários, unidades ultraestruturais da glândula mamária, são constituídos por células secretoras rodeadas por tecido mioepitelial. Estão organizados em 7 a 10 lobos (figura 2) que se dividem em lóbulos e estão separados por septos fibrosos (ligamentos de Cooper) que se estendem da faixa profunda à pele. O tecido conjuntivo interlobular contém depósitos de adipócitos. Cada um dos seus ductos excretores termina de forma independente no mamilo. (ÓRFÃO; GOUVEIA, 2009)

Figura 2 - Representação da anatomia da mama feminina. Na imagem à esquerda, estão representadas estruturas externas da mama, como aréola e mamilo; além dos linfonodos. À direita, a estrutura interna, com destaque para os lóbulos e ductos e tecidos.



FONTE: Adaptado de National Cancer Institute (NCI), 2023.

Segundo INCA (2022) o câncer de mama é uma anormalidade celular multifatorial no tecido mamário no qual as células se multiplicam de forma exacerbada e desorganizada, sendo ocasionada por mutações nos genes que codificam proteínas reguladoras do ciclo celular, resultando em um tumor maligno. Sendo considerado o mais prevalente em mulheres, o câncer de mama representa 24,5% do quadro geral de câncer no Brasil e afeta 12% das mulheres em todo o mundo. Em 2018 aproximadamente 18 milhões de pessoas foram diagnosticadas e até 2040 é esperado que esse número dobre. Diante desse cenário é necessário um avanço nas pesquisas a fim de auxiliar no diagnóstico e tratamento, uma vez que o diagnóstico precoce é uma das melhores abordagens para prevenção, fazendo com que diminua a taxa de mortalidade causada por essa doença.

Essa doença complexa e heterogênea é estrogênio-dependente, sendo assim características reprodutivas estão ligadas a ela e englobam a menarca precoce que ocorre aos 11 anos ou em idades inferiores, a menopausa tardia que ocorre aos 55 anos ou mais, primigesta com 30 anos ou mais e mulheres que não tiveram nenhuma gestação ao longo da vida. Os principais fatores de risco que estão mais vinculados ao desenvolvimento do câncer de mama são a idade avançada, características reprodutivas,

a história familiar e pessoal, os hábitos de vida e as influências ambientais. No entanto, o fator de risco mais importante é o gênero, já que no sexo feminino a doença tem uma maior frequência chegando à incidência de 100 a 150 vezes superior quando comparado com o sexo masculino, este fato é explicado pela quantidade superior de tecido mamário e exposição ao estrogênio endógeno nas mulheres. (OLIVEIRA et al., 2020)

A prevenção é a principal arma para que se consiga interferir no processo da carcinogênese e redução do aparecimento do tumor. O objetivo da prevenção primária é evitar a exposição aos fatores de risco de câncer e aderir a um estilo de vida mais saudável, como não fumar, praticar atividade física, se alimentar de maneira saudável, manter um peso adequado ao longo da vida, evitar o consumo de bebidas alcóolicas, amamentar, evitar a ingestão de hormônios falsos (anticoncepcionais e tratamentos de reposição hormonal) e evitar exposição a agentes físicos, químicos e biológicos relacionados ao trabalho. Enquanto o objetivo da prevenção secundária é detectar e tratar doenças que causam câncer, como por exemplo HPV (papilomavírus humano) ou neoplasias assintomáticas. (BATISTA et al., 2020)

4.1 CLASSIFICAÇÃO DO CÂNCER DE MAMA

A classificação do câncer visa fornecer um diagnóstico preciso da doença e prever o comportamento do tumor para facilitar a tomada de decisão oncológica. (TSANG; TSE, 2019) Independente da fase em que o câncer é detectado, há necessidade de se classificar cada caso de acordo com a extensão do tumor. O método utilizado para essa classificação é chamado de estadiamento e sua importância está na constatação de que a evolução da doença é diferente quando a mesma está restrita ao órgão de origem ou quando se estende a outros órgãos. O estadiamento pode ser clínico ou patológico.

Estadiar um caso de neoplasia maligna significa avaliar o seu grau de disseminação. Para tal, há regras internacionalmente estabelecidas, que estão em constante aperfeiçoamento. O sistema de estadiamento mais utilizado é o preconizado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), denominado Sistema TNM de Classificação dos Tumores Malignos. Esse sistema baseia-se na extensão anatômica da doença, levando em conta as características do tumor primário (T), as características dos

linfonodos das cadeias de drenagem linfática do órgão em que o tumor se localiza (N) e a presença ou ausência de metástase a distância (M). Esses parâmetros recebem graduações, geralmente de T0 a T4; N0 a N3; e de M0 a M1, respectivamente. (INCA, 2011)

Cabe ressaltar que o sistema de saúde deve acolher, informar e realizar prontamente avaliação diagnóstica em resposta à demanda da mulher. Prioridade de atendimento e na marcação de exames deve ser dada às mulheres sintomáticas e que apresentem alguma alteração suspeita na mama. Um processo de regulação clínica conduzido por profissionais qualificados, conforme protocolo estabelecido, deve proporcionar agilidade no percurso da mulher dentro do sistema de saúde. A tabela 1 apresenta as recomendações nacionais de conduta para os achados mamográficos, de acordo com a classificação BI-RADS® do Colégio Americano de Radiologia. (INCA, 2011). O sistema de relatórios e dados de imagens mamárias (BI-RADS) é um sistema para padronização de laudos de mamografia. Desenvolvido pelo American College of Radiology em 1993, seu objetivo é fornecer informações aos médicos e pacientes que encaminham os pacientes em uma linguagem clara, significativa e padronizada em todas as instalações. Com base em dados científicos e desenvolvido pelos líderes mundiais em imagiologia mamária, o sistema BI-RADS descreve os principais resultados mamográficos e descreve o acompanhamento e gestão adequados (BARAZI; GUNDURU, 2022)

Tabela 1 - A tabela aponta a categoria BI-RADS®, achados mamográficos, o risco de câncer e a conduta a ser tomada.

Categoria BI-RADS®	Achados mamográficos	Risco de câncer	Conduta
1 – Negativo	Sem achados	< 0,05%	Rotina do rastreamento
2 – Benigno	Achados benignos	< 0,05%	Rotina do rastreamento
3 – Provavelmente benigno	Achados provavelmente benignos	< 2%	Controle radiológico por três anos (semestral no primeiro ano e anual nos segundo e terceiro anos) Confirmando estabilidade da lesão, volta à rotina Eventualmente biópsia
4 – Suspeito (baixa, média e alta suspeição)	Achados suspeitos de malignidade	Entre 2 e 95%	Biópsia e estudo histopatológico
5 – Altamente suspeito	Achados altamente suspeitos de malignidade	> 95%	Biópsia e estudo histopatológico
6 – Achados já com diagnóstico de câncer	Diagnóstico de câncer comprovado histologicamente	100%	Seguir tratamento conforme o caso
0 – Indefinido	Necessidade de avaliação adicional (outras incidências mamográficas, ultrassonografia etc.)	-	Realizar a avaliação necessária e reclassificar conforme categorias anteriores

FONTE: American College of Radiology; Colégio Brasileiro de Radiologia, 2016 apud Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2021, p.10.

Existem muitos tipos de câncer de mama. A classificação é determinada pelo tipo específico de células da mama afetadas. A maioria dos cânceres de mama são carcinomas. Os mais comuns, como o carcinoma ductal in situ e o carcinoma invasivo, são adenocarcinomas, uma vez que os cânceres começam nas células glandulares dos dutos de leite ou nos lóbulos. Os cânceres de mama também são classificados por certos tipos de proteínas ou genes que cada câncer pode produzir. Após a realização de uma biópsia, as células do câncer de mama são testadas para proteínas chamadas receptores de estrogênio e receptores de progesterona, e o gene ou proteína HER2 (receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano). As células tumorais também são examinadas no laboratório para descobrir qual é o seu grau. As proteínas específicas encontradas e o grau do tumor podem ajudar a decidir o estágio do câncer e as opções de tratamento. (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021)

A classificação histológica dos cânceres de mama é baseada no padrão de crescimento patológico. O mais comum é o carcinoma ductal invasivo do tipo não especial

(IDC-NST), que representa 70% a 80% de todos os cânceres invasivos, seguido pelos carcinomas lobulares invasivos (CLI) (cerca de 10% de todos os cânceres invasivos). O restante são os tipos histológicos menos comuns, como carcinomas mucinosos, cribriformes, micropapilares, papilares, tubulares, medulares, metaplásicos e apócrinos. A classificação em tipos histológicos é baseada em uma ampla gama de critérios, incluindo o tipo de célula tumoral (por exemplo, carcinoma com características apócrinas), secreção extracelular (por exemplo, carcinoma mucinoso), características arquitetônicas (por exemplo, carcinoma papilar) e perfil imuno-histoquímico (por exemplo, carcinoma com diferenciação neuroendócrina). IDC-NST não exibe características morfológicas específicas de quaisquer outros tipos histológicos mais específicos; assim, a maioria dos cânceres da mama enquadra-se numa única categoria, isto é, IDC-NST. Esta classificação não pode refletir totalmente a heterogeneidade biológica dos cânceres da mama. (TSANG; TSE, 2019)

Já em relação a sua capacidade de disseminação, o câncer de mama pode ser *in situ*, quando as células que revestem os ductos se transformam em células cancerígenas, mas não se expandem para o estroma adjacente. O carcinoma ductal *in situ* é considerado o estágio inicial do câncer de mama, podendo ou não evoluir para um câncer invasivo. A maioria dos cânceres de mama são invasivos, mas existem dois diferentes tipos: o carcinoma ductal invasivo e o carcinoma lobular invasivo. O carcinoma ductal invasivo é o tipo mais comum de câncer de mama, aproximadamente 8 em cada 10 cânceres de mama invasivos são carcinomas ductais invasivos (IDC). O IDC começa nas células que revestem o ducto de leite na mama. A partir daí, o câncer rompe a parede do ducto e cresce nos tecidos mamários próximos. Neste ponto, pode ser capaz de se espalhar (metástase) para outras partes do corpo através do sistema linfático ou da corrente sanguínea. Cerca de 1 em cada 10 cânceres de mama invasivos é um carcinoma lobular invasivo (CLI). O carcinoma lobular invasivo começa nas glândulas mamárias que produzem leite, os lóbulos, e pode ser mais difícil de detectar no exame físico e nos exames de imagem, como mamografias, do que o carcinoma ductal invasivo. E em comparação com outros tipos de carcinoma invasivo, é mais provável que afete ambas as mamas. (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021)

Apesar de o perfil de expressão gênica ser considerado o teste padrão-ouro para a subtipagem molecular do câncer de mama, em países com recursos limitados, como o Brasil, torna-se necessária a utilização de técnicas menos complexas e financeiramente mais viáveis que possam identificar os subtipos moleculares. Para tal finalidade, a anatomia patológica conta com a imunohistoquímica, técnica tecidual *in situ*, utilizada na determinação do perfil de expressão proteica e que é de bastante valia para a patologia mamária atual. A imunohistoquímica mantém a vantagem de avaliar a expressão de proteínas no contexto da morfologia do tumor, podendo ser aplicada a pequenas amostras como biópsias extraídas por agulha fina, em laboratórios clínicos ou de pesquisa, com menores custos e com um rápido tempo de execução. (CIRQUEIRA et al., 2011)

A avaliação de receptores de estrogênio (RE), receptores de progesterona (RP) e receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) é rotina no tratamento do câncer de mama. São marcadores prognósticos e importantes fatores preditivos para terapia hormonal e anti-HER2. RE e RP são receptores nucleares de esteróides sexuais que estimulam o crescimento de mamas normais e neoplásicas e estão presentes em 75% dos cânceres de mama. Os cânceres positivos para RE/RP são geralmente de baixo grau e menos agressivos, quando comparados a HER2. A superexpressão de HER2 está associada a um curso clínico agressivo e a um mau prognóstico, mas também é preditiva de resposta a tratamentos direcionados ao anti-HER2. Os restantes 10% a 15% dos cânceres da mama que não expressam nenhum destes 3 marcadores são denominados cânceres da mama triplo negativos. (TNBC). Os TNBC são geralmente de alto grau e associados a um mau prognóstico. (TSANG; TSE, 2019) Além de constituírem o tipo mais frequente de câncer de mama invasivo (>85%) que se desenvolve no contexto de pacientes portadores de mutações germinativas BRCA1 (gene 1 do câncer de mama) (DERAKHSHAN; REIS-FILHO, 2022)

Em relação a classificação molecular, estudos de perfil de expressão gênica global classificaram o câncer de mama em cinco subtipos intrínsecos: luminal A, luminal B, superexpressão de HER2, câncer de mama do tipo basal (BLBC) e tumores do tipo normal. (TSANG; TSE, 2019). Os subtipos luminiais A e B recebem esse nome devido à similaridade que as células neoplásicas desses grupos possuem com as células

mamárias normais, que ficam em contato direto com o lúmen dos ductos mamários, as chamadas células luminais. (CIRQUEIRA et al., 2011) O luminal A tem alta expressão de genes relacionados ao RE e baixa expressão de genes relacionados à proliferação celular em comparação com B. O subtipo luminal A também apresentou alta expressão de genes ER α (receptor de estrogênio alfa). (ZEPEDA-CASTILLA et al., 2008), além disso esse subtipo representa cerca de 60% dos casos dos carcinomas de mama e, apresentam, em relação aos demais, o melhor prognóstico. Na sua maioria, são tumores que têm receptor de estrogênio positivo e baixo grau histológico. Os tumores do subtipo luminal B exibem, em sua maioria, receptores hormonais positivos, embora por vezes esses sejam expressos em baixos níveis e não raramente apresentem alto índice proliferativo. São caracterizados por expressarem genes associados ao HER2 e a um maior número de genes de proliferação celular, que incluem a expressão de genes MKI67 (Ki-67), CCNB1 e MYBL2. Seu maior índice de proliferação celular traz consigo um pior prognóstico em relação aos tumores luminais A. A expressão de RE, RP, HER2 e mais recentemente a utilização do índice do Ki-67, distinguem o subtipo luminal A do luminal B. (CIRQUEIRA et al., 2011).

HER2 é um receptor de tirosina quinase transmembrana ligante órfão pertencente à família do receptor epidérmico humano (HER). A homo ou heterodimerização de HER2 com um dos outros três receptores (HER1 ou EGFR, HER3 e HER4), desencadeia a ativação de diferentes vias de sinalização que estão associadas à proliferação celular, invasão e sobrevivência de células cancerígenas (MARCHIÒ et al., 2020).

Foi demonstrado que a ativação funcional do receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano promove fortemente a carcinogênese. O mecanismo primário de ativação de HER2 nesses cânceres é a amplificação do gene HER2 que leva à superexpressão completa da proteína HER2 na membrana celular (VRANIC; GATALICA, 2020). O subtipo superexpressão de HER2, como o próprio nome indica, possui elevada expressão da oncoproteína HER2, porém apresenta negatividade para receptores hormonais. (CIRQUEIRA et al., 2011). Compreendendo aproximadamente 15% de todos os cânceres de mama invasivos, é caracterizado pela superexpressão de genes associados à sinalização de HER2/HER2 e genes localizados no amplicon de HER2 no

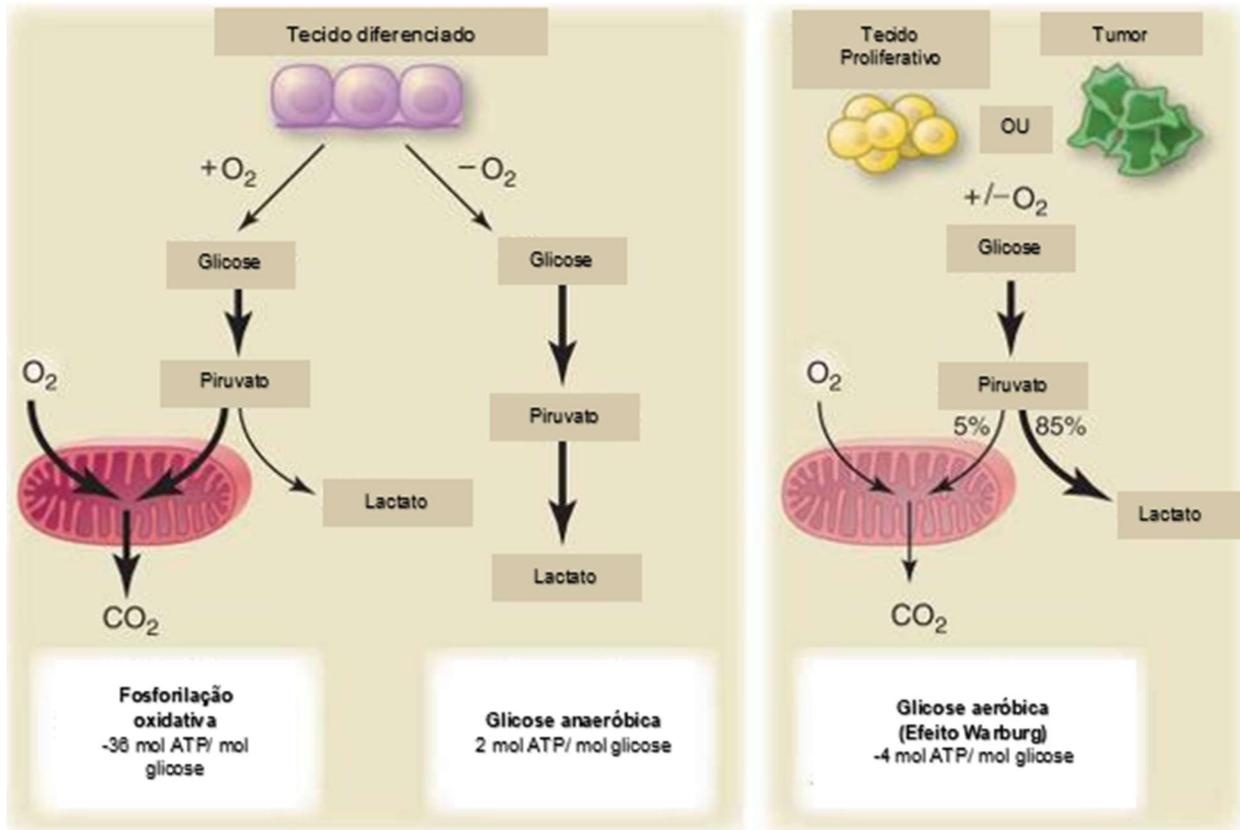
cromossomo 17q12.16. Os tumores com superexpressão de HER2 provavelmente serão altos grau, RE e RP, e seguirão um curso clínico agressivo. No entanto, eles são altamente responsivos à terapia direcionada ao anti-HER2, sendo um alvo terapêutico importante. (TSANG; TSE, 2019).

O câncer de mama do tipo basal é caracterizado pela expressão de vários genes expressos em células basais/mioepiteliais, demonstra padrão prognóstico mais reservado, associado a menor sobrevida livre da doença e a menor sobrevida global. Apresenta negatividade tanto para os receptores hormonais, quanto para a superexpressão de HER2. Os tumores basalóides têm baixa expressão do gene BRCA1, causada por metilação de seu gene promotor, por inativação de transcrição de BRCA1, ou por ambos. Na verdade, quase todos os tumores de mama associados a uma mutação BRCA1, seja esporádica ou hereditária, têm um fenótipo basalóide triplo negativo. Devido à ausência de imunomarcagem de RE, RP e HER2, tumores basalóides são ainda chamados por alguns autores de “tumores triplo-negativos” (TTN), no entanto, sabe-se que parte dos tumores triplo-negativos não se equivalem aos basalóides, podendo ser mais bem descritos como “tumores triplo-negativos não basalóides”. (CIRQUEIRA et al., 2011).

4.2 FISIOPATOLOGIA DO CÂNCER DE MAMA

Segundo Corchado-Cobos et al (2022), os tumores exibem alterações metabólicas que os diferenciam dos tecidos normais dos quais derivam. Essas alterações metabólicas favorecem o crescimento do tumor e produzem alterações metabólicas e funcionais nas células estromais circundantes. As células tumorais requerem mais energia e moléculas para construir estruturas celulares por um processo anabólico para atingir um alto grau de proliferação. Dessa forma, as células tumorais em proliferação sofrem alterações metabólicas para aumentar a aquisição de energia e ativar reações anabólicas. Em suma, o efeito Warburg faz parte dessas alterações e consiste na ativação da glicólise e na inibição da fosforilação oxidativa (OXPHOS). (Figura 3)

Figura 3 - Representação da fosforilação oxidativa, glicólise anaeróbica e glicólise aeróbica (efeito Warburg).



FONTE: Adaptado de VANDER HEIDEN; CANTLEY; THOMPSON, 2009

Nota: Na presença de oxigênio, os tecidos diferenciados metabolizam a glicose em piruvato por meio da glicólise e, posteriormente oxidam o piruvato em dióxido de carbono (CO₂) nas mitocôndrias durante o processo de fosforilação oxidativa. O oxigênio é o receptor final de elétrons para oxidar completamente a glicose, portanto ele é essencial para esse processo. Quando o oxigênio é limitante, as células podem gerar lactato a partir do piruvato, esse processo é conhecido como glicólise anaeróbica. A geração de lactato durante a glicólise anaeróbica permite que a glicólise continue, porém resulta em uma produção mínima de adenosina trifosfato (ATP) quando comparada a fosforilação oxidativa. Warburg observou que as células cancerígenas tendem a converter a maior parte da glicose em lactato, independente da presença de oxigênio (glicólise anaeróbica). Essa propriedade é compartilhada com tecidos proliferativos normais. As mitocôndrias permanecem funcionais e alguma fosforilação oxidativa continua tanto nas células cancerosas quanto nas normais em proliferação. (VANDER HEIDEN; CANTLEY; THOMPSON, 2009)

Posteriormente foi proposto o modelo de Warburg invertido, no qual a proliferação do parênquima tumoral é mantida pela atividade glicolítica do estroma. Este modelo explica a existência de tumores com altos níveis de respiração mitocondrial e baixos índices de glicólise. As células cancerígenas podem manter altos níveis de atividade do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA). Todavia, os dois sistemas de captação de energia podem coexistir em células tumorais, onde células cancerígenas podem trocar de um sistema de coleta de energia para outro e mudar da glicólise para OXPHOS mesmo sob condições de acidose láctica. No câncer de mama o metabolismo misto é visto mais em tumores de mama triplo-negativos. Devido à alta atividade de proliferação celular, há um aumento no consumo de nutrientes que elas extraem do ambiente e um aumento na liberação de metabólitos no microambiente. Nesse contexto, os tumores podem mostrar aumento da glicólise, diminuição da atividade do ciclo de Krebs e aumento da acidificação do interstício devido à liberação de lactato. (CORCHADO-COBOS et al., 2022)

Segundo Ganapathy-Kanniappan e Geschwind (2013), o metabolismo da glicose nas células cancerígenas é caracterizado principalmente por dois eventos bioquímicos principais: (i) aumento da captação de glicose e (ii) glicólise aeróbica, o processo de conversão de glicose em piruvato resultando eventualmente na produção de lactato (fermentação). Outrossim, células tumorais absorvem glicose em grande quantidade e continuamente, uma vez que é a sua principal fonte de carbono, dessa forma o torna escasso no microambiente. Esse processo, que inclui células em proliferação, envolve a absorção da glicose e secreção de carbono como lactato, mesmo tendo oxigênio presente. Dessa forma, o processamento da glicose por meio da glicólise aeróbia provoca um aumento na produção de lactato, pois o piruvato é preferencialmente transformado em lactato ao invés de passar para acetil-CoA e entrar no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) de Krebs. A diminuição da atividade do ciclo do TCA leva a redução da oxidação mitocondrial e isso é conhecido como efeito Warburg. Um aumento na captação de glicose através do transportador de glicose 1 (GLUT) 1 foi observado no câncer de mama triplo negativo, assim como GLUT1 e GLUT3 (transportador de glicose 3) são superexpressos no câncer de mama de alto grau (2 e 3). O aumento da atividade da via glicolítica também é explicado por uma maior atividade das enzimas hexoquinase 2, que é superexpressa no câncer de mama, além de níveis elevados de fosfofrutoquinase e

piruvato quinase M2 (M2PK). O lactato, menos eficaz que a glicose, também é utilizado como uma fonte de energia para processos tumorais. Como consequência do alto nível de glicose no estroma, há liberação de lactato no interstício tumoral. Assim, o excesso de ácido láctico é liberado por meio de transportadores específicos, como os sistemas de transporte de monocarboxilato (MCT), esse excesso pode resultar em uma acidificação do microambiente. Uma alta concentração de lactato no interstício tem sido associada a um risco aumentado de metástase e morte por câncer.

Para mais, Corchado-Cobos, et al (2022) evidenciou que células cancerígenas usam mais glutamina e outros aminoácidos quando comparado a células saudáveis. Os aminoácidos são intensivamente captados do interstício, pois a segunda fonte de carbono de células tumorais em proliferação. O aminoácido mais importante é a glutamina, que tem diversas funções nas células tumorais como, é um metabólito intermediário para a síntese de nucleotídeos e aminoácidos não essenciais (NEAAs); permite a captação de outros aminoácidos essenciais (EAAs) pelos transportadores; tem um papel na regeneração de metabólitos intermediários do TCA e, por fim é importante na síntese de glutathione, que é essencial para evitar o excesso de oxidação intracelular e manter o estado de oxidação-redução (redox). No câncer de mama, a glutamina é essencial para a sobrevivência das células TNBC e há superexpressão da enzima glutaminase, que é responsável por converter glutamina em ácido glutâmico. A serina, um aminoácido não essencial, também tem importância no câncer de mama. A 3-fosfoglicerato-desidrogenase (PHGDH) é a primeira enzima envolvida na síntese de serina e é superexpressa no câncer de mama, tais elementos foram associados ao crescimento tumoral, afinal a serina alimenta vias de síntese de proteínas, além de influenciar a contribuição de metabólitos para o TCA.

4.3 MECANISMOS GENÉTICOS E EPIGENÉTICOS DO CÂNCER DE MAMA

O câncer é uma doença genética e epigenética. Os mecanismos epigenéticos regulam múltiplos aspectos da biologia do câncer, desde a condução do crescimento e invasão do tumor primário até a modulação da resposta imune dentro do microambiente do tumor. (MARTINEZ et al., 2021) Nesse contexto, a epigenética consiste em alterações

herdáveis na expressão gênica sem que haja mudanças nas sequências de nucleotídeos de DNA. Há três mecanismos principais: a metilação do DNA, modificação de histonas e a ação de RNAs não codificadores, os miRNAs.

A epigenética, originalmente definida por CHWaddington como “as interações causais entre os genes e os seus produtos, que dão origem ao fenótipo”, envolve a compreensão da estrutura da cromatina e do seu impacto na função genética. A definição de Waddington referia-se inicialmente ao papel da epigenética no desenvolvimento embrionário; entretanto, a definição de epigenética evoluiu ao longo do tempo, pois está implicada em uma ampla variedade de processos biológicos. A definição atual de epigenética é “o estudo de alterações hereditárias na expressão genética que ocorrem independentemente de alterações na sequência primária do DNA”. A maioria dessas alterações hereditárias são estabelecidas durante a diferenciação e são mantidas de forma estável através de múltiplos ciclos de divisão celular, permitindo que as células tenham identidades distintas enquanto contêm a mesma informação genética. Esta herdabilidade dos padrões de expressão gênica é mediada por modificações epigenéticas, que incluem metilação de bases de citosina no DNA, modificações pós-traducionais de proteínas histonas, bem como o posicionamento de nucleossomos ao longo do DNA. O complemento destas modificações, coletivamente referidos como epigenoma, fornece um mecanismo para a diversidade celular, regulando quais informações genéticas podem ser acessadas pela maquinaria celular. A falha na manutenção adequada de marcas epigenéticas hereditárias pode resultar na ativação ou inibição inadequada de várias vias de sinalização e levar a estados de doença como o câncer. (SHARMA; KELLY; JONES, 2009)

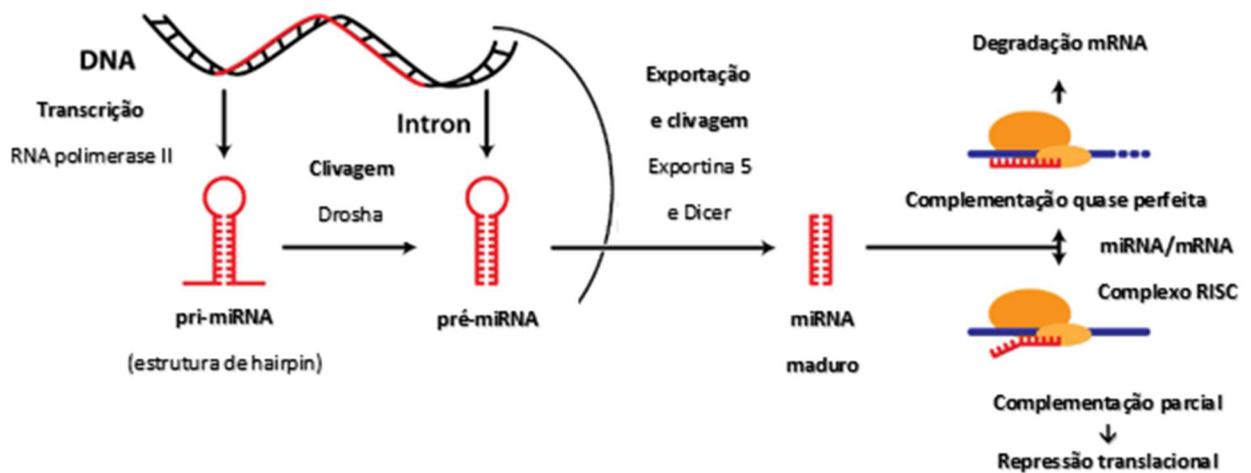
4.3.1 MICRO RNAS

Os miRNAs estão associados ao início do câncer de mama, bem como na progressão metastática e, além disso, essas moléculas podem ser usadas como alvos para o desenvolvimento de novas terapias contra o câncer de mama e como biomarcadores. MicroRNAs são pequenas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) não codificantes de 19 a 25 nucleotídeos endógenos que podem atuar como reguladores

negativos pós-transcricionais da expressão gênica através da degradação ou repressão da tradução de moléculas-alvo de RNA mensageiro (AMARAL et al., 2010). Estima-se que 20 a 30% da expressão gênica humana é regulada por miRNAs e até o momento foram identificados aproximadamente 3.000 miRNAs relacionados a tumores catalogados no miRBase (www.mirbase.org), sendo divididos em 2 classes: miRNAs oncogênicos e miRNAs supressores. (LIMA JORGE et al., 2021)

O processo de biogênese de miRNAs é complexo, (figura 5) inicia-se no núcleo e é finalizado no citoplasma, além de incluir a participação de diversas enzimas e complexos proteicos celulares, que regulam todo o percurso até a produção de miRNAs maduros capazes de desempenhar sua função (LIMA JORGE et al., 2021). A biogênese do miRNA é classificada em via canônica e não canônica. A via canônica é a principal e começa com a transcrição do ácido desoxirribonucleico (DNA) que é tipicamente mediada pela RNA polimerase II, embora alguns pré-miRNAs sejam gerados pela RNA polimerase III (PENG; CROCE, 2016). O primeiro transcrito, chamado miRNA primário ou pri-miRNA, tem uma estrutura de hairpin, ou grampo de cabelo (LIMA JORGE et al., 2021) importante para estabilização (figura 4).

Figura 4 - Representação da biogênese dos miRNAs, com foco no pri-miRNA e na sua estrutura de hairpin.



FONTE: Adaptado de Plasticity-related microRNA and their potential contribution to the maintenance of long-term potentiation. Brigid Ryan, Greig Joilin and Joanna M. Williams. *Front. Mol. Neurosci.*, 23 February 2015

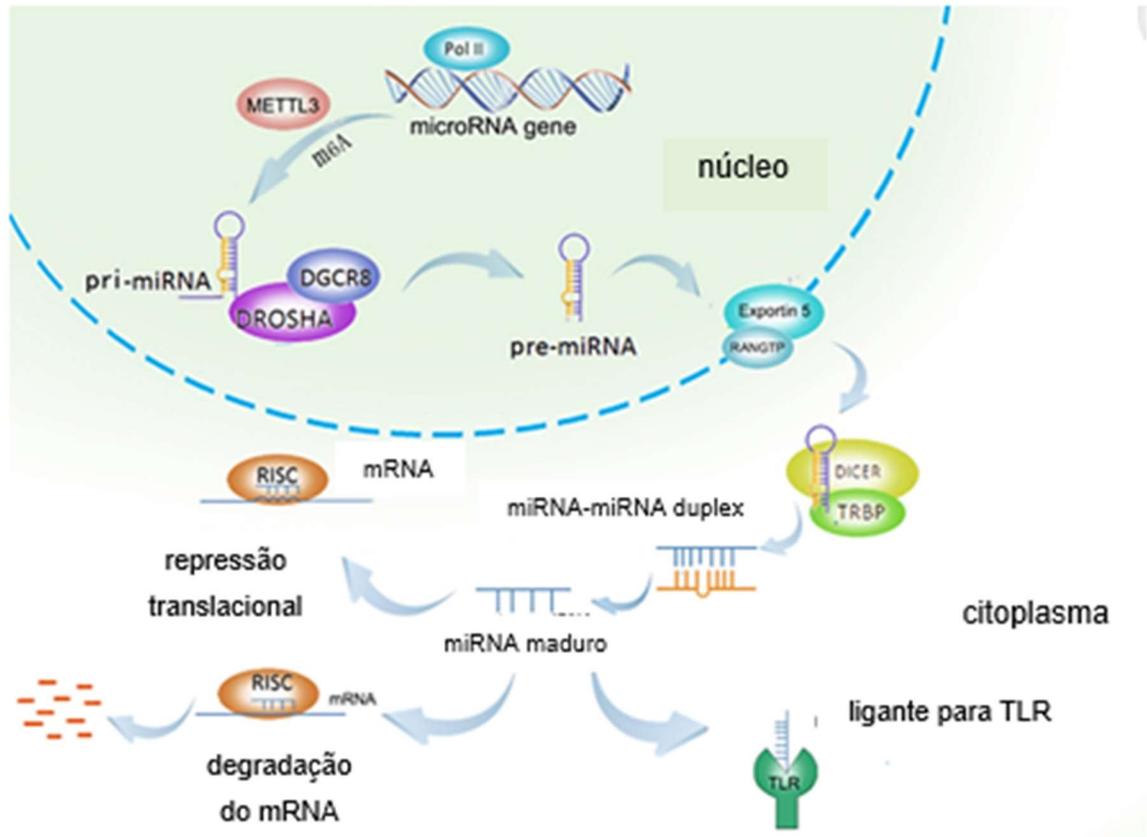
Os miRNAs primários (pri-miRNAs) são clivados por um complexo microprocessador que consiste em uma proteína de ligação ao RNA *DiGeorge Syndrome Critical Region 8* (DGCR8) e uma enzima ribonuclease III, Drosha que irão remover a cauda poli A e o encapamento dos extremos da mesma. Esse processamento resulta em uma molécula de RNA de dupla fita com aproximadamente 70 nucleotídeos, denominada miRNA precursor ou pré-miRNA. Uma vez gerados os pré-miRNAs, eles são exportados para o citoplasma com auxílio do complexo exportina-5 (XPO5) /RanGTP (O'BRIEN et al., 2018).

No citoplasma, a enzima Dicer continua com o processamento do miRNA, removendo a alça não pareada da molécula e dando origem a um miRNA de fita dupla de aproximadamente 22 nucleotídeos, o miRNA duplex (LIMA JORGE et al., 2021). O miRNA duplex é associado a um complexo proteico chamado RISC (complexo de silenciamento induzido por RNA) juntamente com uma proteína Argonauta (AGO), onde uma fita é selecionada para se tornar o miRNA maduro (PENG; CROCE, 2016). No processo de biogêneses de miRNAs por vias não canônicas, há uso proteínas envolvidas na via canônica, principalmente Drosha, Dicer, exportina 5 e AGO2. (LIMA JORGE et al., 2021)

Em geral, a biogênese não canônica do miRNA pode ser agrupada em vias independentes de Drosha/DGCR8 e independentes de Dicer. Os pré-miRNAs são produzidos pela via independente de Drosha/DGCR8 no núcleo e assemelham-se aos substratos Dicer (OBRIEN et al., 2018). Um exemplo desses pré-miRNAs são os mirtrons que são gerados por meio de splicing pré-mRNA e miRNAs gerados a partir de pequenos precursores de RNA nucleolar (snRNAs) (MICHELEWSKI, 2019). Esses RNAs nascentes são exportados diretamente para o citoplasma através da exportina 1 sem a necessidade de clivagem de Drosha. Por último, a diferença entre o processamento canônico e o não canônico, se deve à participação das proteínas Ago2 no lugar da Dicer (LIMA JORGE et

al., 2021). Dessa forma, eles exercem controle epigenético sobre o ciclo celular, apoptose e outros processos essenciais para a homeostase (PERRI et al., 2017).

Figura 5 - Biogênese dos miRNAs, processo mediado por enzimas e complexos proteicos. Inicia-se no núcleo e termina no citoplasma, onde por fim, teremos miRNAs maduros capazes de desempenhar sua função.



FONTE: Adaptado de PENG, Y & CROCE, C.M, 2016.

Li et al. (2020) sugerem que o microRNA-9 tenha um importante papel no desenvolvimento do câncer de mama, envolvendo promoção da metástase, alta malignidade, estágio tumoral alto, ou seja, tendem a crescer mais rapidamente e têm um prognóstico pior, alta recidiva local do câncer de mama, baixa sobrevida, fenótipo invasivo e mau resultado, além de ser um biomarcador para diagnóstico e prognóstico.

Em suma, o miR-9 é altamente expresso em subtipos HER2+ e triplo-negativos em comparação a subtipos luminais. Outrossim, Piasecka et al. (2018) concluíram

que miR-9, miR-221/222, miR-373 e miR-10b são significativamente regulados positivamente e fortemente associados com invasão e a superexpressão do miR-21 e evidenciaram que a estimulação do fator de crescimento transformador beta (TGF β) aumenta a expressão de miR-21 em células cancerígenas. O miR-21 é tem associação com mau prognóstico, como baixa sobrevida livre de recidiva. Para cada subtipo molecular do câncer de mama há miRNAs circulantes, no subtipo luminal A, miR-29a, miR-181a, miR-652 estão relacionados, já para o subtipo luminal B, apenas miR-342 é circulante. HER2 + está associado a miR-10b e miR-21 e por fim, para o subtipo basal (TNBC) apenas miR-210 é relacionado. Xu et al. (2020) reuniram dados e concluíram que miR-21 promove a proliferação e invasão em células TNBC por meio do direcionamento de PTEN (homólogo de fosfatase e tensina) para regular sua expressão. MiR-25-3p induz o crescimento tumoral ativando as vias de sinalização AKT (proteína quinase B) e ERK-MAPK inibindo a expressão de BTG2 (gene 2 de translocação de células B). MiR-93 promove proliferação, invasão e metástase. MiR-455-3p melhora as habilidades de proliferação celular, invasão e migração em linhagens celulares TNBC, tem como alvo o supressor de tumor El 24 e liga-se ao seu 3' UTR (região não codificante do mRNA). (quadro 1).

Dessa forma, como um miRNA pode regular múltiplos alvos, ele desempenha um papel extenso em condições fisiológicas e patológicas (LI et al., 2020). No contexto do câncer de mama, os miRNAs são importantes uma vez que afetam a expressão gênica, além de serem moléculas importantes na manutenção do equilíbrio entre oncogenes e genes supressores tumorais. (AMARAL et al., 2010)

Tabela 2- Relação entre os subtipos de câncer de mama e os miRNAs relacionados.

Subtipo de câncer de mama	MiRNAs
Luminal A	MiR-29a, miR-181a, miR-652
Luminal B	MiR-342
HER2+	MiR-10b e miR-21
TNBC	MiR-210, miR-21, miR-25-3p, miR-93, miR-455-3p

4.3.2 METILAÇÃO DO DNA

Desde a sua descoberta inicial em bactérias em 1925, a metilação do DNA tem sido investigada numa vasta gama de organismos e está ligada a tópicos biológicos, desde a regulação genética e organização do genoma, à reprodução e desenvolvimento, e a doenças e envelhecimento. É o mecanismo epigenético mais bem estudado e é frequentemente usado como exemplo clássico de herança epigenética, embora avanços recentes tenham mostrado que esta modificação é mais dinâmica e, portanto, mais complexa do que se pensava anteriormente. (MATTEI; BAILLY; MEISSNER, 2022)

A metilação do DNA envolve a adição de grupos metil ao quinto carbono da citosina por meio de três DNA metiltransferases (DNMTs) — DNMT1, DNMT3A e DNMT3B — sem alterar a sequência do DNA. Esse processo é crucial para o desenvolvimento normal da célula, sua proliferação e manutenção da estabilidade gênica. (RODRIGUES et al., 2019)

É regulada pelo equilíbrio entre DNMTs e DNA demetiltransferases (TETs). Os TETs (TET1, TET2 e TET3) são enzimas de desmetilação do DNA que convertem 5 metilcitosina (5mC) em 5 hidroximetilcitosina (5hmC) (ITO et al., 2011). Os elementos reguladores são motivos específicos de sequência no genoma dos mamíferos que coordenam a expressão genética. Uma classe fundamental de elemento regulatório são as ilhas CpG (CGIs). CGIs são regiões do genoma que são enriquecidas em dinucleotídeos de citosina e guanina (CpGs) (CAIN; BERTILLE MONTIBUS; OAKLEY, 2022)

As ilhas CpG representam uma classe generalizada de sequências de DNA frequentemente associadas a promotores de genes de vertebrados, onde suas características de sequência os adaptam para atividade transcricional. (ANGELONI; BOGDANOVIC, 2021)

No câncer ocorre a metilação anormal, isso inclui a hipermetilação local da região promotora na ilha CpG de um gene específico e hipometilação do genoma nas regiões de repetição genômica, desempenhando função essencial na regulação da expressão gênica e no silenciamento de elementos repetidos no genoma. A hipometilação genômica pode causar instabilidade genômica, perda de imprinting genômico e mudanças de expressão genética metilados anteriormente. (RODRIGUES, A. H. F. et al) Nesse

contexto, a frequência que ocorre a hipometilação é menor do que a hipermetilação e há uma menor probabilidade de ocorrer a hipometilação da citosina, segundo Ma et al., (2023) esse evento ocorre em cerca de 50% dos cânceres de mama.

Podem ser observados dois padrões de hipometilação no câncer de mama, um deles resulta na hipometilação de oncogenes e o outro em níveis reduzidos de metilação de oncogenes devido à ausência de metilação do DNA. A hipermetilação (metilação aberrante), é responsável pelo silenciamento dos genes supressores de tumores (RODRIGUES et al., 2019) Além de promover uma proliferação celular descontrolada, resultando em metástase, a hipermetilação pode ser utilizada como biomarcador para diagnóstico e tratamento do câncer de mama. Diante disso, nos TNBCs, o estrogênio (17β estradiol; E2) induz hipometilação mediada por DNMT3B no promotor da proteína 1 associada a Yes (YAP1) e aumenta a proliferação de células cancerígenas. (MA et al., 2023).

Outrossim, a expressão aumentada da proteína 1 associada à proliferação induzida por sinal (*SIPA1*) causada pela hipometilação da ilha CpG no elemento promotor-proximal, promove a transformação epitelial-mesenquimal. A metilação do domínio 12 da metalopeptidase ADAM (*ADAM12*) no TNBC é menor do que nos tecidos mamários não neoplásicos, logo a hipometilação pode ser um biomarcador de mau resultado e um potencial alvo terapêutico. A hipometilação do elemento 1 não codificante de longa disseminação (*LINE-1*) é relatada como um biomarcador para pacientes com CM de baixo grau. (MA et al., 2023). Em suma, a metilação de regiões específicas de alguns genes como: *SIPA1*, canal de domínio de dois poros de potássio (*KCNK9*), domínio ADAM metalopeptidase 12 (*ADAM12*) e *LINE-1* estão relacionadas à um mau resultado.

Segundo Bogdanović e Veenstra (2009), quando a metilação ocorre na região promotora de um gene, a transcrição é inibida diretamente pelo bloqueio dos locais de ligação para o fator de transcrição ou pelo recrutamento de proteínas de ligação metil-CpG. Em tumores esporádicos de neoplasias mamárias, por exemplo, é observada a hipermetilação dos genes supressores tumorais *BRCA1*, *BRCA2*, inibidor de quinase dependente de ciclina 2A (*CDKN2A* p,16), glutathione S-Transferases pi 1 (*GSTP1*),

caderina 1 (CDH1) e “*RAS association domain family 1A*” (RASSF1). (RODRIGUES, A. H. F. et al).

Os genes BRCA1 e BRCA2 são considerados genes supressores tumorais e são os mais destacados no câncer de mama, uma vez que mulheres que herdaram mutações nesses genes têm um risco aumentado de desenvolver esse tipo de câncer (REBBECK et al., 2015), além do mais, possuem a função de impedir a formação de tumores por meio da reparação de moléculas de DNA (RODRIGUES et al., 2019). O gene BRCA1 localiza-se no cromossomo 17 (17q21) e está associado como primeiro gene de susceptibilidade ao câncer de mama. Este, expressa uma proteína pleiotrópica que atua ativando o checkpoint na célula e auxilia no reparo do DNA. Posteriormente foi identificado o gene BRCA2, que age no mecanismo de recombinação homóloga. Sendo assim, se forem silenciados podem sofrer instabilidade genômica, que é crucial para o desenvolvimento do câncer. Além disso, foi observado a hipermetilação do gene Glutathione S-transferase Mu 2 (GSTM2), que confere proteção tanto a célula normal como para a neoplásica, e por isso poderia estar relacionada com uma maior agressividade tumoral. (GONÇALVES et al., 2009). O gene GSTM2 é responsável pela desintoxicação de compostos eletrofílicos, incluindo carcinógenos e drogas terapêuticas.

Spitzwieser et al. (2017), analisaram, a partir de amostras de tecido mamário, o estado de metilação de sete genes: polipose adenomatosa coli (APC), BRCA1; CDKN2A (p16), receptor de estrogênio α (ESR1); receptor de estrogênio β (ESR2), HER2/neu, e PTEN. Concluiu-se que em tecidos tumorais, os níveis de metilação do promotor de ESR2 correlacionaram-se com os de APC, proteína de resistência a múltiplos fármacos 1 (ABCB1) e “*ATP binding cassette subfamily G member 2*” (ABCG2). O promotor ESR2 foi frequentemente metilado em tecidos tumorais, adjacentes ao tumor e distantes do tumor de pacientes com câncer de mama. Ademais, a hipermetilação aberrante de genes que codificam o receptor de estrogênio (ER)- γ e o receptor de progesterona está correlacionada com o silenciamento desses genes e com o desenvolvimento de câncer de mama ER e RP-negativo (FLAHI et al., 2014).

4.3.3 MODIFICAÇÕES DE HISTONAS

Além da metilação de DNA e das alterações pós-transcricionais dos miRNAs, a expressão genética também depende de modificações pós traducionais de histonas, que irão ocorrer por meio de acetilação, metilação, fosforilação, glicosilação e ubiquitinação, levando a uma desestabilidade e alterando o empacotamento cromossômico, esse processo é reversível e, no contexto da patologia cancerígena, podem ser relacionadas à metástase e grau de malignidade. A metilação consiste em uma modificação covalente do DNA na qual um grupamento metil (cH3) é transferido da s-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina (5-Mec) que geralmente precede a uma guanina (dinucleotídeo CpG), pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de dna metiltransferase (DNMT). (OLIVEIRA et al., 2010).

A acetilação é um processo reversível, relacionada à ativação transcricional, silenciamento de genes, reparo de DNA e progressão do ciclo celular, essa modificação específica é realizada por enzimas chamadas histonas acetiltransferases (HAT), que catalisam a transferência de um grupo acetil do acetil Co-A para os grupos lisina e amino nas caudas das histonas. As enzimas que atuam para reverter esse processo são conhecidas como histonas desacetilases (HDAC). (RAMAZI; ALLAHVERDI; ZAHIRI, 2020).

O processo de fosforilação de histonas é dinâmico e a maioria dos locais de fosforilação das histonas estão dentro das caudas N-terminais e agregam carga negativa ao eu resíduo modificado. A espinha dorsal do DNA tem carga negativa devido à presença de fosfato, e a adição de fosfatos nas histonas afrouxaria a associação do DNA com as histonas. A ubiquitinação envolve a ligação da molécula de ubiquitina, uma proteína de 76 aminoácidos, a proteínas através da formação de uma ligação isopeptídica entre a ubiquitina terminal C e a lisina da cadeia lateral das proteínas alvo. (RAMAZI; ALLAHVERDI; ZAHIRI, 2020).

A glicosilação de proteínas é a ligação covalente de açúcares simples ou glicanos, isto é, polissacarídeos multiaçúcares ou oligossacarídeos complexos, para selecionar resíduos de proteínas alvo. (EICHLER, 2019)

Vários estudos identificaram que existe uma relação complexa entre as alterações epigenéticas no nível do DNA e as alterações no nível das histonas, uma vez que a acetilação de histonas altera a carga eletrostática por neutralização, posto que as

histonas possuem carga positiva e o DNA carga negativa, portanto a acetilação global das caudas das histonas pode diminuir as interações eletrostáticas entre a lisina básica, e o DNA. (GUO et al., 2018) Há dados que sugerem que as mudanças na metilação do DNA podem precipitar modificações nos resíduos de histonas e empacotamento da cromatina (WU; SARKISSYAN; VADGAMA, 2015). As modificações da acetilação são mediadas por histonas acetiltransferases (HAT) e desacetilases (HDAC) (SCHNEIDER et al., 2013). Herman e Baylin (2003) afirmam que a acetilação por HATS resulta no relaxamento do empacotamento cromossômico, permitindo que os fatores de transcrição acessem e iniciem a transcrição dos genes. Em contrapartida, as HDACS resultam no estreitamento das histonas, reduzindo o acesso de proteínas reguladoras da transcrição (WU; SARKISSYAN; VADGAMA, 2015). HAT, em células humanas, podem ser subdivididos em 3 subfamílias: a família MYST, a família N -acetiltransferases (GNAT) e a família p300/CBP, todas as subfamílias incluem fatores de transcrição, bem como coativadores de receptores de esteróides com atividade catalítica (GAJER et al., 2015).

No câncer, inúmeras enzimas epigenéticas que são responsáveis pela manutenção da normalidade celular são frequentemente mutadas e/ou desreguladas, resultando em modificações epigenéticas. Entre elas, a redução global da lisina monoacetilada 16 da histona H4 (H4K16) por perda ou baixos níveis de acetilação foi sugerida como um evento precoce no câncer de mama. Em suma, HATS mutantes, padrões alterados de metilação de histonas, como mutações de metiltransferases de histonas foram relatados no câncer de mama (FALAHY et al., 2015). A acetilação na lisina 4 da histona 3 (H3K4ac) também está diretamente ligado a promotores de genes associados ao câncer de mama. A acetilação de histonas promove a superexpressão de certos genes. P300 é uma lisina acetiltransferase que leva a ativação de alguns oncogenes. Ademais, a superexpressão de enzimas modificadoras de histonas, como histona desacetilases 2 (HDAC2), desmetilase lisina-específica 1 (LSD1) e sirtuina 1 (SIRT1) tem relação com a diferenciação tumoral e proliferação de células tumorais. (BASSE; AROCK, 2014).

Dessarte, as modificações de acetilação de histonas influenciam em um grande número de funções celulares, como o controle da regulação e da expressão gênica, reparo de DNA, apoptose, metástase, e crescimento celular no câncer de mama.

Portanto, são fundamentais para o desenvolvimento e prognóstico da neoplasia mamária.
(GUO et al., 2018)

5. CONCLUSÃO

O câncer de mama é uma anormalidade celular multifatorial no tecido mamário em que as células se multiplicam de forma exacerbada e desorganizada, é ocasionada por mutações nos genes que codificam proteínas reguladoras do ciclo celular, resultando em um tumor maligno. Essa doença complexa e heterogênea é diretamente ligada a modificações epigenéticas, como modificações de histonas, metilação do DNA e ação de RNAs não codificadores, os miRNAs. A biogênese e o papel dos miRNAs no câncer de mama estão relacionados ao início do câncer de mama, bem como na metástase prognóstico e diagnóstico da doença. Os miRNAs: miR-9, miR-221/222, miR-373, miR-10b, miR-21, miR-21, miR-25-3p, miR-93, miR-455-3p foram relacionados a invasão, proliferação e metástase, além de mau prognóstico, baixa sobrevida e recidiva. Em suma, para cada subtipo de câncer de mama há miRNAs circulantes. A metilação do DNA é a modificação epigenética mais estudada e, a partir dela pode ocorrer a hipermetilação e a hipometilação, que são mecanismos anormais de controle celular. Tal anormalidade pode resultar em instabilidade genômica, proliferação celular descontrolada e conseqüentemente pode levar a metástase. No que se refere a modificação de histonas, a aceitação dessa proteína pode causar um relaxamento do empacotamento

cromossômico e, por consequência, permitir que fatores de transcrição acessem e iniciem a transcrição genética, além de promover a superexpressão de determinados genes, apoptose e metástase.

O diagnóstico correto do subtipo do câncer de mama é de suma importância, visto que ele pode definir o prognóstico do paciente, uma vez que há determinadas modificações epigenéticas para cada subtipo de câncer. O estadiamento é uma forma de classificação e pode ser clínica ou patológica. Estadiar uma neoplasia maligna significa avaliar o seu grau de disseminação. O estadiamento é feito a partir de um sistema que foi proposto pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), denominado Sistema TNM de Classificação dos Tumores Malignos. Além do estadiamento, há a classificação histológica, que classifica as neoplasias mamárias em: carcinoma ductal invasivo, carcinomas lobulares invasivos, carcinomas mucinosos, cribriformes, micropapilares, papilares, tubulares, medulares, metaplásicos e apócrinos. Em suma, a classificação molecular é a mais conhecida e há 5 subtipos: luminal A, luminal B, superexpressão de HER2, câncer de mama do tipo basal (BLBC) e tumores do tipo normal.

Destaca-se também, as alterações metabólicas que os tumores exibem quando comparados a tecidos normais. Tais alterações são necessárias para as células cancerígenas poderem adquirir mais energia e moléculas para atingir um alto grau de proliferação. O metabolismo da glicose e do lactato, assim como os aminoácidos, foram associados ao crescimento tumoral.

Verificou-se que a alteração dos mecanismos genéticos e da fisiopatologia celular estão relacionados à proliferação celular exacerbada, metástase, alto grau de malignidade, baixa recidiva e mau prognóstico do paciente. Nesse contexto, os avanços na pesquisa por meio de testes moleculares tumorais são altamente explorados na atualidade com objetivo de minimizar tratamentos agressivos e contribuir para a detecção precoce do câncer de mama. Sendo assim, a classificação do câncer de mama é essencial para definir o melhor tratamento e prognóstico tumoral para o paciente.

REFERÊNCIAS

ADRASKELA, K. et al. Physical Exercise Positively Influences Breast Cancer Evolution. **Clinical Breast Cancer**, v. 17, n. 6, p. 408–417, out. 2017.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Types of Breast Cancer | About Breast Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/types-of-breast-cancer.html>>.

ANGELONI, A.; BOGDANOVIC, O. Sequence determinants, function, and evolution of CpG islands. **Biochemical Society Transactions**, v. 49, n. 3, p. 1109–1119, 22 jun. 2021.

Aparelho reprodutor feminino. Disponível em: <<https://mol.icb.usp.br/index.php/20-33-aparelho-reprodutor-feminino/>>.

ATUATI, S. F.; ANDRADE, V. R. M.; DIEL, V. B. N. A GENÉTICA E A EPIGENÉTICA NO CÂNCER DE MAMA: UM ESTUDO DE REVISÃO. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 13–24, 2021.

BARAZI, H.; GUNDURU, M. **Mammography BI RADS Grading**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539816/>>.

BASSE, C.; AROCK, M. The increasing roles of epigenetics in breast cancer: Implications for pathogenicity, biomarkers, prevention and treatment. **International Journal of Cancer**, v. 137, n. 12, p. 2785–2794, 1 dez. 2014.

BATISTA, G. V. et al. Câncer de mama: fatores de risco e métodos de prevenção. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e15191211077–e15191211077, 16 dez. 2020.

BOGDANOVIĆ, O.; VEENSTRA, G. J. C. DNA methylation and methyl-CpG binding proteins: developmental requirements and function. **Chromosoma**, v. 118, n. 5, p. 549–565, 9 jun. 2009.

Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)–Health Professional Version - National Cancer Institute. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/types/breast/hp/breast-treatment-pdq>>. Acesso em: 1 ago. 2023.

CAI, Y. et al. A Brief Review on the Mechanisms of miRNA Regulation. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 7, n. 4, p. 147–154, 1 dez. 2009.

CAIN, J. W.; BERTILLE MONTIBUS; OAKLEY, R. J. Intragenic CpG Islands and Their Impact on Gene Regulation. v. 10, 11 fev. 2022.

CIRQUEIRA, M. B. et al. Molecular subtypes of breast cancer. **Feminina**, v. 39, 30 out. 2011. <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n10/a2965.pdf>>

CORCHADO-COBOS, R. et al. Pathophysiological Integration of Metabolic Reprogramming in Breast Cancer. **Cancers**, v. 14, n. 2, p. 322, 1 jan. 2022.

DERAKHSHAN, F.; REIS-FILHO, J. S. Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 17, n. 1, p. 181–204, 24 jan. 2022.

EICHLER, J. Protein glycosylation. **Current Biology**, v. 29, n. 7, p. R229–R231, abr. 2019.

FALAH, F. et al. Current and upcoming approaches to exploit the reversibility of epigenetic mutations in breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 16, n. 4, 29 jul. 2014.

FUENTES, N.; SILVEYRA, P. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, v. 116, p. 135–170, 2019.

GAJER, J. M. et al. Histone acetyltransferase inhibitors block neuroblastoma cell growth in vivo. **Oncogenesis**, v. 4, n. 2, p. e137–e137, 1 fev. 2015.

GANAPATHY- KANNIAPPAN, S.; GESCHWIND, J.-F. H. Tumor glycolysis as a target for cancer therapy: progress and prospects. **Molecular Cancer**, v. 12, n. 1, p. 152, 2013.

GONÇALVES, A. J. et al. Sistema Glutation-S-Transferase como fator prognóstico no carcinoma papilífero da tireoide. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, p. 279–282, 2009.

GSTM2 glutathione S-transferase mu 2 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2946>>. Acesso em: 11 ago. 2023.

GUO, P. et al. The Histone Acetylation Modifications of Breast Cancer and their Therapeutic Implications. **Pathology & Oncology Research**, v. 24, n. 4, p. 807–813, 11 jun. 2018.

HATA, A.; KASHIMA, R. Dysregulation of microRNA biogenesis machinery in cancer. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 51, n. 3, p. 121–134, dez. 2015.

HERMAN, J. G.; BAYLIN, S. B. Gene Silencing in Cancer in Association with Promoter Hypermethylation. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 21, p. 2042–2054, 20 nov. 2003.

ITO, S. et al. Tet Proteins Can Convert 5-Methylcytosine to 5-Formylcytosine and 5-Carboxylcytosine. **Science**, v. 333, n. 6047, p. 1300–1303, 21 jul. 2011.

JESINGER, R. A. Breast Anatomy for the Interventionalist. **Techniques in Vascular and Interventional Radiology**, v. 17, n. 1, p. 3–9, mar. 2014.

KOBAYASHI, H.; TOMARI, Y. RISC assembly: Coordination between small RNAs and Argonaute proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1859, n. 1, p. 71–81, jan. 2016.

LI, X. et al. MicroRNA-9 and breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 122, p. 109687, fev. 2020.

LI, Y. Modern epigenetics methods in biological research. **Methods**, jul. 2020.

LIGGETT, W. H.; SIDRANSKY, D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 16, n. 3, p. 1197–206, 1998.

LIMA JORGE, A. et al. MicroRNAs: entendendo seu papel como reguladores da expressão gênica e seu envolvimento no câncer. **einstein**, v. 2317-6385, 15 dez. 2021.

MA, L. et al. The Mechanism of DNA Methylation and miRNA in Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 11, p. 9360, 1 jan. 2023.

- MARCHIÒ, C. et al. Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. **Seminars in Cancer Biology**, fev. 2020.
- MARTINS, L. A. L.; BARRA, A. DE A.; LUCENA, C. Ê. M. DE. Microcalcificações mamárias Suspeitas de Malignidade. www.repositorio.ufop.br, 2010.
- MATTEI, A. L.; BAILLY, N.; MEISSNER, A. DNA methylation: a historical perspective. **Trends in Genetics**, v. 38, n. 7, p. 676–707, 1 jul. 2022.
- MCGHEE, D. E.; STEELE, J. R. Breast Biomechanics: What Do We Really Know? **Physiology**, v. 35, n. 2, p. 144–156, 1 mar. 2020.
- MICHELLEWSKI, G.; CÁCERES, J. F. Post-transcriptional control of miRNA biogenesis. **RNA**, v. 25, n. 1, p. 1–16, 17 out. 2018.
- PENG, Y.; CROCE, C. M. The role of MicroRNAs in human cancer. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 1, n. 1, 28 jan. 2016.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE Instituto Nacional de Câncer (INCA). 2011 Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>. Acesso em: 28 de agosto de 2023.
- NAC. Visão Geral sobre microRNA. Disponível em: <<https://www.nacientifico.com.br/visao-geral-sobre-microrna/>>. Acesso em: 28 de agosto de 2023.
- NEBBIOSO, A. et al. Cancer epigenetics: Moving forward. **PLOS Genetics**, v. 14, n. 6, p. e1007362, 7 jun. 2018.
- NIRMALADEVI, R. Epigenetic alterations in cancer. **Frontiers in Bioscience**, v. 25, n. 6, p. 1058–1109, 2020.
- O'BRIEN, J. et al. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. 402, 3 ago. 2018.
- OLIVEIRA, A. L. R. et al. FATORES DE RISCO E PREVENÇÃO DO CÂNCER DE MAMA. **Cadernos da Medicina - UNIFESO**, v. 2, n. 3, 29 mar. 2020.
- OLIVEIRA, N. F. P. DE et al. Metilação de DNA e Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 56, n. 4, p. 493–499, 31 dez. 2010.
- ÓRFÃO, A.; GOUVEIA, C. Apontamentos de anatomia e fisiologia da lactação. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 25, n. 3, p. 356–362, 1 maio 2009.
- Outubro Rosa 2022**. Instituto Nacional do Câncer, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/campanhas/2022/outubro-rosa#:~:text=O%20C%C3%A2ncer%20de%20mama>>. Acesso em: 17 de abril de 2023

- PERRI, F. et al. Epigenetic control of gene expression: Potential implications for cancer treatment. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 111, p. 166-172, 2017.
- PIASECKA, D. et al. MicroRNAs in regulation of triple-negative breast cancer progression. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 144, n. 8, p. 1401–1411, 1 ago. 2018.
- RAMAZI, S.; ALLAHVERDI, A.; ZAHIRI, J. Evaluation of post-translational modifications in histone proteins: A review on histone modification defects in developmental and neurological disorders. **Journal of Biosciences**, v. 45, n. 1, 20 out. 2020
- REBBECK, T. R. et al. Association of Type and Location of BRCA1 and BRCA2 Mutations With Risk of Breast and Ovarian Cancer. **JAMA**, v. 313, n. 13, p. 1347, 7 abr. 2015.
- RODRIGUES, A. H. F. et al. Mecanismos epigenéticos no câncer de mama: o papel dos biomarcadores e da medicina personalizada. **Revista InterScientia**, v. 7, n. 2, p. 174–186, 30 dez. 2019.
- SCHULER, L. A.; O'LEARY, K. A. Prolactin: The Third Hormone in Breast Cancer. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 16 jun. 2022.
- SCHNEIDER, A. et al. Acetyltransferases (HATs) as targets for neurological therapeutics. **Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 10, n. 4, p. 568–588, 1 out. 2013.
- SHARMA, S.; KELLY, T. K.; JONES, P. A. Epigenetics in cancer. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 1, p. 27–36, 13 set. 2009.
- SPITZWIESER, M. et al. Hypermethylation of CDKN2A exon 2 in tumor, tumor-adjacent and tumor-distant tissues from breast cancer patients. **BMC Cancer**, v. 17, n. 1, 12 abr. 2017.
- Os 7 tipos de câncer de mama e a importância do diagnóstico.** Vida Saudável Einstein, 2020. Disponível em: <<https://vidasaudavel.einstein.br/tipos-de-cancer-de-mama/>>. Acesso em: 23 de março de 2023.
- TANG, Q. et al. Blood-based DNA methylation as biomarker for breast cancer: a systematic review. **Clinical Epigenetics**, v. 8, p. 115, 2016.
- TARABORRELLI, S. Physiology, production and action of progesterone. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 94, n. S161, p. 8–16, nov. 2015.

TSANG, J. Y. S.; TSE, G. M. Molecular Classification of Breast Cancer. **Advances In Anatomic Pathology**, v. 27, n. 1, p. 1, abr. 2019.

Types of Breast Cancer | About Breast Cancer. Disponível em:
<<https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/types-of-breast-cancer.html>>.
Acesso em 13 de abr.

VANDER HEIDEN, M. G.; CANTLEY, L. C.; THOMPSON, C. B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. **Science**, v. 324, n. 5930, p. 1029–1033, 21 maio 2009.

VRANIC, S.; GATALICA, Z. Targeting HER2 expression in cancer: New drugs and new indications. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, 7 jun. 2020.

What Is Breast Cancer? | **American Cancer Society**. Disponível em:
<<https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/what-is-breast-cancer.html>>.
Acesso em 28 de agosto de 2023.

WU, Y.; SARKISSYAN, M.; VADGAMA, J. V. Epigenetics in Breast and Prostate Cancer. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 1238, p. 425–466, 2015.

XU, J. et al. Roles of miRNA and lncRNA in triple-negative breast cancer. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 21, n. 9, p. 673–689, 1 set. 2020.

ZEPEDA-CASTILLA, E. J. et al. Clasificación molecular del cáncer de mama. **Cirugía y Cirujanos**, v. 76, n. 1, p. 87–93, 2008.