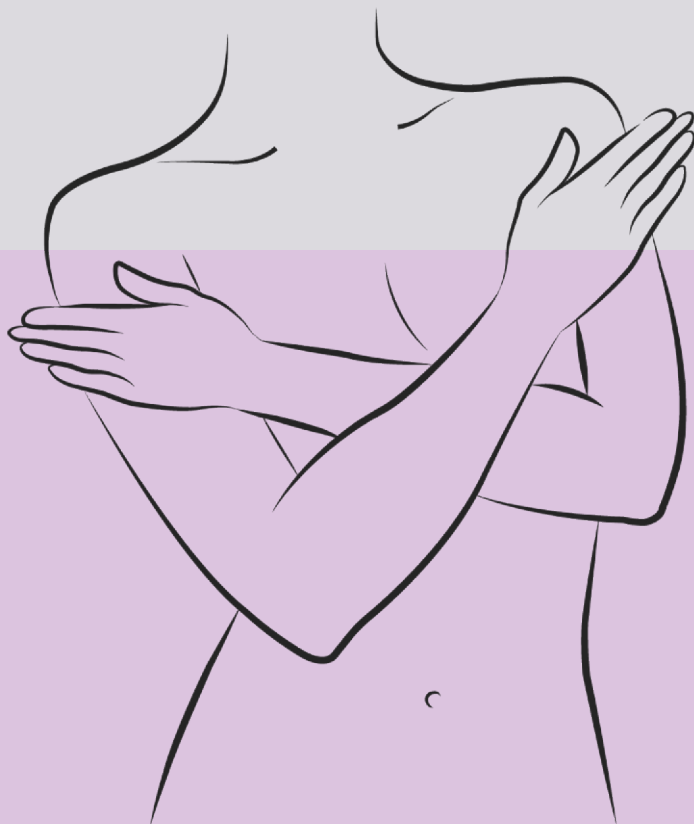


# BIOMARCADORES NO CÂNCER DE MAMA



**Carla Solange de Melo Escórcio Dourado**  
**João Paulo da Silva-Sampaio**  
**Luana Mota Martins**  
(Organização)



# **BIOMARCADORES NO CÂNCER DE MAMA**



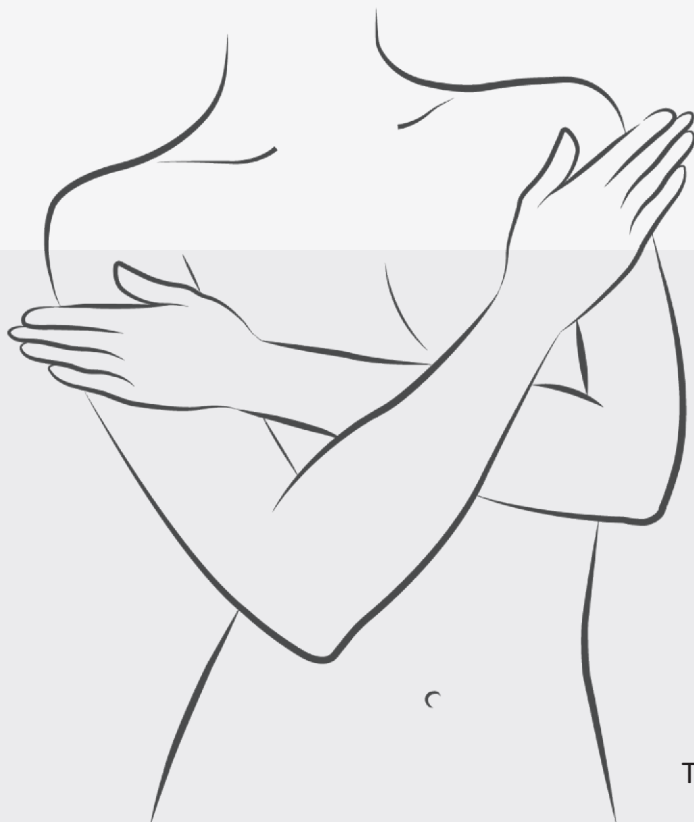
Teresina-PI  
2020



# BIOMARCADORES NO CÂNCER DE MAMA



**Carla Solange de Melo Escórcio Dourado**  
**João Paulo da Silva-Sampaio**  
**Luana Mota Martins**  
(Organização)



Teresina-PI  
2020





## UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Reitor: Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

Vice-Reitora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nadir do N. Nogueira

Superintendente de Comunicação Social:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jacqueline Lima Dourado

### CONSELHO EDITORIAL

Ricardo Alaggio Ribeiro (presidente)

Acácio Salvador Veras e Silva

Antonio Fonseca dos Santos Neto

Wilson Seraine da Silva Filho

Gustavo Fortes Said

Nelson Nery Costa

Viriato Campelo



Editora da Universidade Federal do Piauí - EDUFPI

Campus Universitário Ministro Petrônio Portella

CEP: 64049-550 - Bairro Ininga - Teresina - PI - Brasil

Todos os direitos reservados



Projeto Gráfico: *Lídia Araújo dos M. Moura Fé*

### FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Piauí

Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

Serviço de Processamento Técnico

B615 Biomarcadores no câncer de mama / Carla Solange de Melo Escórcio Dourado, João Paulo da Silva-Sampaio, Luana Mota Martins (organização). – Teresina : EDUFPI, 2020. 167 p. : il.

ISBN: 978-65-5904-005-6

1. Câncer de mama. 2. Biomarcadores. 2. Micronutrientes.  
3. Proteínas. I. Dourado, Carla Solange de Melo Escórcio.  
II. Sampaio, João Paulo da Silva. III. Luana Mota Martins.

CDD 616.994 49



## APRESENTAÇÃO

No mundo, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima que para cada ano do triênio 2020/2022, sejam diagnosticados no Brasil 66.280 novos casos desse tipo de câncer, com um risco estimado de 61,61 casos a cada 100 mil mulheres. A incidência do câncer de mama está relacionada a fatores genéticos, dietéticos, hormonais e reprodutivos. Estudos epidemiológicos têm chamado a atenção para uma possível associação entre diferentes biomarcadores e o câncer de mama.

A presente obra intitulada “Biomarcadores no Câncer de Mama” destina-se a profissionais e estudantes da área da saúde (Biomedicina, Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia, Medicina, Nutrição e Odontologia) e aos professores envolvidos no ensino e no aprendizado dessas disciplinas correlatas. Este livro foi estruturado em 13 capítulos, contando com 23 colaboradores e organizado em 2 partes: Parte 1, compreendendo os micronutrientes: Vitaminas A e D, Cálcio, Selênio e Zinco. E na Parte 2 foram desenvolvidos temas relacionados aos biomarcadores e seu mecanismo de ação no câncer de mama, abrangendo estrutura molecular, fisiopatologia e prognóstico.

Não pretendemos apresentar um estudo exaustivo sobre a associação entre biomarcadores e micronutrientes com o câncer de mama, mas uma reunião de conhecimentos científicos para a melhor compreensão dessa relação. Assim, os colaboradores apresentaram, em seus respectivos capítulos, a bibliografia recomendada a ser consultada posteriormente para complementação do assunto descrito. Convidamos os leitores a participarem das nossas reflexões acerca da biologia do câncer de mama e sua relação com os mais diversos biomarcadores apresentados.

Carla Solange de Melo Escórcio Dourado  
João Paulo da Silva-Sampaio  
Luana Mota Martins

# AUTORES

## **Bruna Grazielle Mendes Rodrigues**

*Nutricionista, Pós-graduanda em Nutrição Clínica (UCAM) e Oncologia Multidisciplinar (UNIEDUCACIONAL)*

## **Camila Maria Simplicio Revoredo**

*Nutricionista, Doutora em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Alimentos e Nutrição (UFPI); Especialista em Nutrição Clínica (IBPEX); Nutricionista Chefe da Produção do Restaurante Universitário da UFPI.*

## **Carla Solange de Melo Escórcio Dourado**

*Farmacêutica, Doutora em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de Farmácia Clínica pela Universidade Federal do Ceará- UFC; Especialista em Docência no Ensino Superior (Centro Universitário UNIFSA) e em Gestão da Assistência Farmacêutica (Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC); Professora do Curso de Farmácia da UFPI.*

## **Danylo Rafael Costa Silva**

*Fisioterapeuta (UESPI), Doutor em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Ciências e Saúde (UFPI); Especialista em Fisioterapia Hospitalar (FACULDADE INSPIRAR).*

## **Denilson de Araújo e Silva**

*Graduando do Curso de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPÍ.*

## **Edinara Costa Santos**

*Nutricionista (UNIFACEMA), Graduanda em Tecnologia de Alimentos (UEMANET).*

## **Fabiane Araújo Sampaio**

*Nutricionista (UFPI), Doutora em Biotecnologia (RENORBIO), Mestre em Ciências e Saúde (UFPI).*

## **Geovana Chaves Ximenes de Moraes**

*Nutricionista, Pós-graduanda em Nutrição Materno Infantil (UNIEDUCACIONAL).*

## **Gilmara Péres Rodrigues**

*Nutricionista, Professora do Departamento de Nutrição da UFPI. Doutora em Biotecnologia em Saúde (UFPI), Mestre em Ciências e Saúde (UFPI), Especialista*

*em Saúde Materno-infantil (UFMA). Pesquisadora e Coordenadora do Grupo de Pesquisa em Nutrição, Genômica e Oncologia (NUTRIGENON Research Group).*

**Isaac da Costa Sousa**

*Enfermeiro (UNINOVAFAPI), Especialista em Obstetrícia (IESM).*

**Isabel Oliveira Aires**

*Nutricionista. Mestranda em Ciências e Saúde (PPGCS/UFPI).*

**João Paulo da Siva Sampaio**

*Biomédico, Doutorando em Medicina Tropical (IOC/Fiocruz); Mestre em Ciências e Saúde (UFPI); Especialista em Hematologia Clínica e Banco de Sangue (FAAT); Especialista em Microbiologia Aplicada às Ciências da Saúde (UFPI); Professor do Departamento de Microbiologia do Centro Universitário UNINOVAFAPI|AfyA.*

**Juliane Macedo dos Santos**

*Nutricionista graduada pela Faculdade Uninassau-Redenção.*

**Jussilene Alves Amorim**

*Nutricionista, Pós-Graduanda em Nutrição Clínica, Esportiva e Prescrição de Fitoterápicos (UNIEDUCACIONAL, Teresina-Pi); Pós-graduanda em Docência do Ensino Superior (UNIEDUCACIONAL, Teresina-Pi).*

**Karine Rodrigues Ferreira**

*Nutricionista Residente em Cuidados Intensivos, UFPI/EBSERH; Teresina/Piauí.*

**Larysse Maira Sousa Campos Verdes**

*Nutricionista (UFPI), Doutoranda em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Ciências e Saúde (UFPI).*

**Luana Mota Martins**

*Nutricionista, Doutora em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Alimentos e Nutrição (UFPI); Especialista em Nutrição nos Ciclos da Vida (UNINOVAFAPI); Professora de Nutrição da Faculdade UNINASSAU/Redenção; Nutricionista Clínica no Instituto Performace e Saúde (IPS).*

**Maísa Guimarães Silva Primo**

*Nutricionista, Especialista em Nutrição Clínica em Alta Complexidade (UFPI/EBSERH); Mestranda em Alimentos e Nutrição (UFPI).*

**Maria da Conceição Barros Oliveira**

*Fisioterapeuta (UNINASSAU), Doutora em Biotecnologia e Saúde (RENORBIO/UFPI); Mestre em Ciências e Saúde (UFPI); Especialista em Fisioterapia Hospitalar (FACULDADE INSPIRAR).*

**Marília Cabral Araújo**

*Graduanda em Nutrição pela Universidade Federal do Piauí.*

**Mayara Santos da Silva**

*Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI.*

**Nadir do Nascimento Nogueira**

*Nutricionista pela Universidade Federal do Piauí (UFPI). Mestra e Doutora em Ciência dos Alimentos (Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP). Professora Titular do Departamento de Nutrição (UFPI). Orientadora nos Programas de Pós-graduação em Ciências e Saúde (UFPI); em Alimentos e Nutrição (UFPI) e em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO/UFPI).*

**Neusa Camilla Cavalcante Andrade Oliveira**

*Nutricionista (UNINASSAU, Teresina-Pi).*

**Poliana Cristina de Almeida Fonseca Viola**

*Nutricionista pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Mestre e Doutora em Ciência da Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Pós-Doutora em Saúde Coletiva (UFMA). Professora Adjunto do Departamento de Nutrição (UFPI).*

**Tatiana Vieira Souza Chaves**

*Farmacêutica-bioquímica, Doutora de Farmacologia (UFC); Mestre em Farmacologia (UFC); Professora de Saúde Pública do Centro Universitário UNINOVAFAPI|Afy; Diretora da Vigilância Sanitária do Estado do Piauí (DIVISA-PI).*

**Thaís Rodrigues Nogueira**

*Nutricionista, Mestranda em Alimentos e Nutrição (PPGAN/UFPI), Pós-Graduada em Obesidade e Emagrecimento (UCAM/RJ). Pesquisadora na área de Nutrição e Saúde, com foco em Mecanismos Inflamatórios, Nutrientes Moduladores e Doenças Crônicas.*



# SUMÁRIO

## PARTE I - VITAMINAS E MICRONUTRIENTES

### Capítulo 1

#### **Vitamina A e o Câncer de Mama .....12**

Thaís Rodrigues Nogueira  
Poliana Cristina de Almeida Fonseca Viola  
Nadir do Nascimento Nogueira  
Gilmara Péres Rodrigues

### Capítulo 2

#### **Vitamina D e o Câncer de Mama.....27**

João Paulo da Silva-Sampaio  
Denilson de Araújo e Silva  
Carla Solange de Melo Escórcio Dourado  
Mayara Santos da Silva  
Luana Mota Martins  
Tatiana Vieira Souza Chaves

### Capítulo 3

#### **Cálcio e o Câncer de Mama .....38**

Larysse Maira Cardoso Campos Verdes  
Isaac da Costa Sousa

### Capítulo 4

#### **Selênio e o Câncer de Mama .....48**

Maísa Guimarães Silva Primo  
Nadir do Nascimento Nogueira  
Poliana Cristina de Almeida Fonseca Viola  
Gilmara Péres Rodrigues

### Capítulo 5

#### **Zinco e o Câncer de Mama.....61**

Luana Mota Martins  
Carla Solange de Melo Escórcio Dourado  
Jussilene Alves Amorim  
Neusa Camilla Cavalcante Andrade Oliveira

## PARTE II - BIOMARCADORES

### Capítulo 6

#### Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (HER2) e o Câncer de Mama .....74

Carla Solange de Melo Escórcio Dourado  
João Paulo da Silva-Sampaio  
Luana Mota Martins

### Capítulo 7

#### CYP19A1 e o Câncer de Mama .....85

Maria da Conceição Barros Oliveira  
Danylo Rafael Costa Silva

### Capítulo 8

#### IGF-1 e o Câncer de Mama .....98

Danylo Rafael Costa Silva  
Maria da Conceição Barros Oliveira

### Capítulo 9

#### Metaloproteinases de Matriz 2/9 e o Câncer de Mama ..... 111

Luana Mota Martins  
João Paulo da Silva-Sampaio  
Karine Rodrigues Ferreira  
Juliane Macedo dos Santos

### Capítulo 10

#### Metalotioneína e o Câncer de Mama .....121

Fabiane Araújo Sampaio  
Edinara Costa Sousa

### Capítulo 11

#### Fator Nuclear Kappa B (NF-κB) e o Câncer de Mama .....132

Camila Maria Simplicio Revoredo  
Isabel Oliveira Aires  
Marília Cabral Araújo

## **Capítulo 12**

### **Fator Nuclear Eritroide Relacionado ao Fator 2 (NRF2) e o Câncer de Mama .....143**

Camila Maria Simplício Revoredo

Bruna Grazielle Mendes Rodrigues

Geovana Chaves Ximenes de Moraes

## **Capítulo 13**

### **P53 e o Câncer de mama .....155**

Fabiane Araújo Sampaio

Edinara Costa

**PARTE I**  
**VITAMINAS E MICRONUTRIENTES**



# Capítulo 1

## Vitamina A e o Câncer de Mama

*Thaís Rodrigues Nogueira*  
*Poliana Cristina de Almeida Fonseca Viola*  
*Nadir do Nascimento Nogueira*  
*Gilmara Péres Rodrigues*

### 1.1 INTRODUÇÃO

A vitamina A compõe um grupo de retinóides com propriedade físico-química de lipossolubilidade, que se apresenta em diferentes isoformas, incluindo os ésteres retinol, retina e retinil. Frequentemente, esta vitamina pode ser referida como retinóide, termo que engloba o retinol, seus metabólitos e respectivos análogos estruturais. A forma química da vitamina A pré-formada é o acetato de retinil ou palmitato de retinil, enquanto a versão provitamina tem o betacaroteno como principal representante, dentre os mais de 500 carotenoides (BRASIL, 2019; IOM, 2001; PERRI et al., 2017; RAMALHO, 2010; ROSS, 2010).

As formas químicas da vitamina A são traduzidas por processos biológicos, geralmente sediados no lúmen intestinal e na mucosa duodenal. A bioconversão de provitaminas em retinol aumenta proporcionalmente a oxidação para formação de ácido retinóico, considerado o principal metabólito ativo da vitamina A (ABRANCHES et al., 2011; DAWSON et al., 2000; ZUO et al., 2016).

O ácido retinóico participa de diversas reações fisiológicas, em prol da manutenção homeostática, uma vez que favorece a saúde celular, o bom funcionamento do músculo esquelético, da barreira seletiva das membranas celulares, regiões da derme e mucosa bucal, além de ter uma participação efetiva na produção de pigmentos na retina do olho (a explicação para o termo retinol). Sobretudo na visão, a vitamina A destaca-se como componente da proteína rodopsina, importante mediador da luz e da diferenciação em tecidos conjuntivais e córneos (BARREIROS; DAVI, 2006; MELO-CAVALCANTE et al., 2019; RAMALHO, 2010).

Além disso, a vitamina A, em especial o betacaroteno, tem ação antioxidante e, portanto, contribui para a imunidade inata, participando efetivamente de eventos como a estabilização de moléculas potencialmente reativas, captação de elétrons, diminuição do estresse oxidativo e/ou na prevenção do processo inflamatório precoce, especialmente pela modulação de biomarcadores de inflamação (MELO-

CAVALCANTE et al., 2019; NATTENMÜLLER et al., 2018; LAROUCHE et al., 2017). Atua, também, no dinamismo celular, gerenciando as reações moleculares de diferenciação e crescimento em vários órgãos do corpo humano (MEZQUITA et al., 2018; JASON et al., 2002; ROSS, 2010; TANG; GUDAS, 2011).

A vitamina A está amplamente distribuída na natureza, podendo ser encontrada em alimentos de origem animal e vegetal (Tabela 1). Em fontes alimentares de origem animal, com destaque para vísceras, ovos e óleos de peixes, está disponível a isoforma pré-formada da vitamina A. Em opções alimentares vegetais, como as frutas de colorações amarela, vermelha, verde e alaranjada intensas, encontram-se os carotenoides, tipos de provitaminas que necessitam de bioconversão à forma ativa, logo após a absorção (IOM, 2001; MAYO-WILSON et al., 2011; SOLOMONS, 2006).

**Tabela 1.** Principais fontes alimentares de vitamina A, nas preparações e quantidades recomendadas para consumo diário.

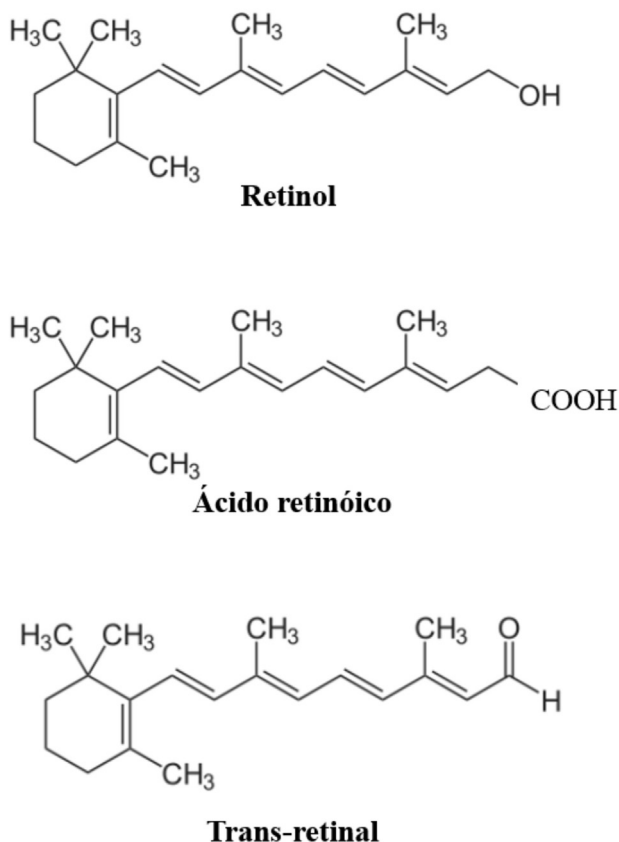
Fontes Alimentares	Preparações e Quantidades recomendadas
Batata-doce	Grelhada, em cubos, ½ xícara de chá
Fígado bovino	Grelhado, 1 bife médio
Espinafre	Cozido, ½ xícara de chá
Cenoura	Crua, ½ xícara de chá
Abóbora	Todas as variedades, Cruas ou cozidas, em cubos, ½ xícara de chá
Melão	Cru, ½ xícara de chá
Pimentão	Vermelhos, crus, ½ xícara de chá
Manga	Crua, 1 unidade média
Ervilha	Cozida, 1 xícara de chá
Brócolis	Cozido, ½ xícara de chá
Queijo, ricota, coalho	1 xícara de chá
Cereais, enriquecidos, 10% do	1 xícara de chá
<b>VD para vitamina A</b>	
Leite	Sem gordura ou desnatado, com adição de vitamina A e vitamina D, 1 xícara de chá
Feijão	Cozido, 1 colher de servir
Ovo	Cozido, 1 unidade grande
Peixe	Cozido ou grelhado, 3 postas médias
Iogurte natural	Baixo teor de gordura, 1 xícara de chá
*Atum	Leve, enlatado em óleo, 1 unidade
Frango e **carne	Grelhadas, cozidas, assadas, ½ peito ou 1 bife médio

VD: Valor diário. \*Evitar consumo diário. \*\*Consumir até 2x/semana.

Fonte: Adaptada de U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2019.

## 1.2 ESTRUTURA E METABOLISMO DA VITAMINA A

A vitamina A, por conter diferentes isoformas, apresenta três principais estruturas químicas, ilustradas na Figura 1:



**Figura 1.** Disposição estrutural das principais isoformas da vitamina A.

Fonte: Elaboração dos autores.

O retinol é a forma mais comum da vitamina A e sua oxidação resulta no ácido retinóico, cuja configuração estrutural inclui um anel de seis insaturações, uma cadeia lateral com ligações duplas configuradas e um grupamento carboxila. O trans-retinal, por sua vez, é obtido a partir da isomerização do retinol (PERRI et al., 2017; TANUMIHARDJO, 2011).

Cada isoforma exibe um comportamento particular no metabolismo da vitamina A, tanto no que se refere à bioconversão e biodisponibilidade, quanto na participação em diversos mecanismos; sobretudo pela combinação ou não com proteínas transportadoras de retinol nos diferentes tecidos. Em média, 70%

da vitamina A ingerida, é absorvida e depositada no fígado, que é o órgão-alvo clássico envolvido na distribuição desse composto orgânico para os tecidos adjacentes e também na utilização das isoformas como substratos para as funções vitais (DAWSON et al., 2000; RAMALHO et al., 2003).

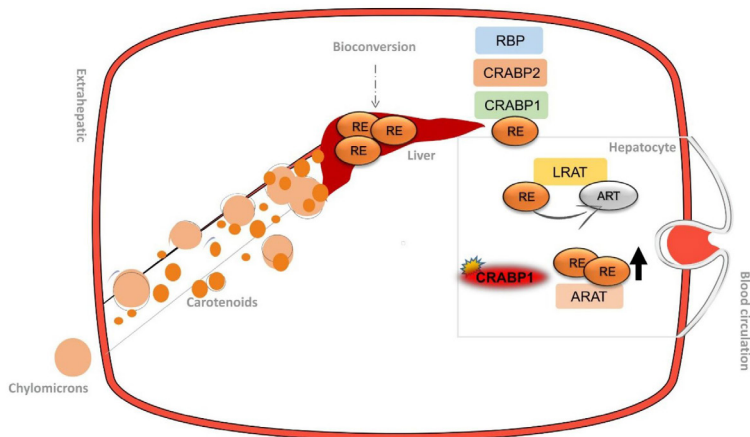
O metabolismo da vitamina A acontece nos hepatócitos, especialmente os parenquimatosos e estrelados, os quais correspondem ao destino final ou via de excreção das moléculas. Nessas células ocorrem reações bioquímicas envolvendo proteínas celulares e enzimas de transporte ou de bioconversão, consideradas indispensáveis ao processo metabólico (CI; QIAO; HAN, 2016; PAULA et al., 2006).

A essencialidade dessas proteínas celulares está relacionada à expressão em tecidos intestinais e adipócitos, à afinidade por moléculas gordurosas (ácidos graxos) e à capacidade de ligação, a exemplo das proteínas citosólicas que são atraídas aos isótopos retinol e ácido retinóico. Mais exemplos de proteínas que atuam como elementos indutores dos mecanismos de transformação de compostos orgânicos, incluem a proteína de ligação ao ácido retinóico celular 1 (CRABP1 - *Cellular Retinoic Acid Binding Protein 1*), integrante da família de proteínas de ligação, e a enzima lecitina retinol aciltransferase (LRAT - *Lecithin Retinol Acyltransferase*) (CHMURZYŃSKA, 2006; HUGHES; PIONTKIVSKA, 2011; MURAI et al., 2009).

Em geral, ao ingerir um alimento que tenha na sua composição a vitamina A, a isoforma mais comum a ser encontrada no trânsito do organismo é o carotenoide. Quando este alcança o meio extra-hepático, as células intestinais produzem grandes partículas, como os quilomícrons, que transportam a estrutura até o fígado. Em seguida, a chegada da isoforma ao órgão de bioconversão funciona como um gatilho para a atuação da CRABP1, responsável por ligar-se ao retinol livre (anteriormente carotenoide) e já convertido, carregando-o até as células estreladas, onde sofrerá esterificação pela ação da LRAT (Figura 2) (KAINOV et al., 2014).

Os processos metabólicos envolvidos na absorção e bioconversão à forma ativa da vitamina A podem também ser influenciados por condições de saturação, sobretudo relacionadas à atividade da CRABP1 e às concentrações elevadas das diferentes isoformas. Nesses casos, outras enzimas, a exemplo da acil-coenzima A- retinol aciltransferase (ARAT - *Acyl Coenzyme A-Retinol Acyltransferase*) são sinalizadas para atuarem por meio de reações de formação ou hidrólise de ésteres, na tentativa de solucionar o excesso de retinol e estimular sua exportação para a circulação sanguínea, a qual é a última via de saída do circuito (LIU et al., 2015).





**Figura 2.** Eventos de bioconversão e metabolização do retinol.

Legenda: RBP (Retinol Binding Protein): Proteína de Ligação ao Retinol; CRABP 1 e 2: Proteína Celular de Ligação ao Retinol 1 e 2; LRAT: Lecitina Retinol Aciltransferase; ARAT: Acil-Coenzima A-Retinol Aciltransferase; ART: Acil Retinol Transferase; RE: Retinol.

Fonte: Adaptada de Nogueira et al. (2020).

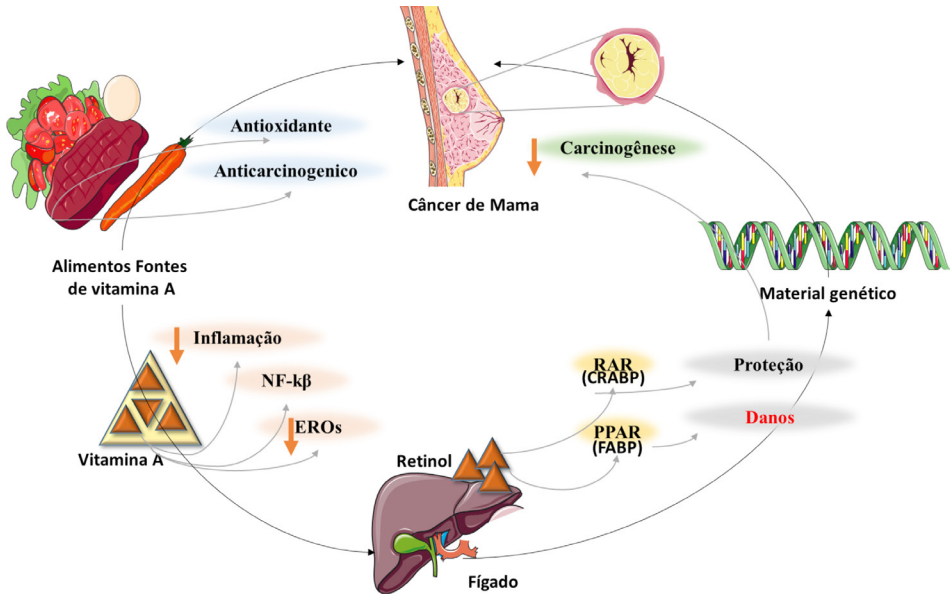
### 1.3 MECANISMO DE AÇÃO DA VITAMINA A NO CÂNCER DE MAMA

A vitamina A é descrita na literatura pelo seu potencial antioxidante protetor contra danos moleculares e/ou eventos oxidativos gerados por espécies reativas de oxigênio (ERO's). Concentrações diminuídas das isoformas de vitamina A permitem que condições metabólicas típicas do estresse oxidativo ativem vias inflamatórias clássicas, desequilibrando a fisiologia dos processos de divisão celular (ODDY et al., 2018; SINATRA; DEMARCO, 1995).

A relação entre inflamação e crescimento celular, dependente da intensidade do processo inflamatório, determina consideravelmente o grau de modificação do *status* metabólico e homeostático (MORGILLO et al., 2018). O padrão desses eventos prediz a ativação de complexos proteicos, que atuam como fatores de transcrição, a exemplo do Fator Nuclear Kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$  $\beta$  - *Nuclear Factor Kappa  $\beta$* ), conhecido por ser peça-chave na ativação de vias celulares/nucleares. Como consequência, a sinalização do NF- $\kappa$  $\beta$  aumenta os níveis de biomarcadores inflamatórios circulantes, especialmente interleucinas (IL-1 e IL-6) e Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  - *Tumor Necrosis Factor Alpha*), resultando em sucessivas respostas celulares, favoráveis a tumorigênese no órgão primário (TRAN et al., 2017).

Especificamente o *cross-talk* entre vitamina A e tumorigênese, a princípio, pode obedecer a alguns aspectos característicos do metabolismo desse nutriente,

que serão fundamentais para a promoção ou inibição de vias promotoras do câncer (Figura 3).



**Figura 3.** Elementos interrelacionados entre vitamina A e carcinogênese mamária.

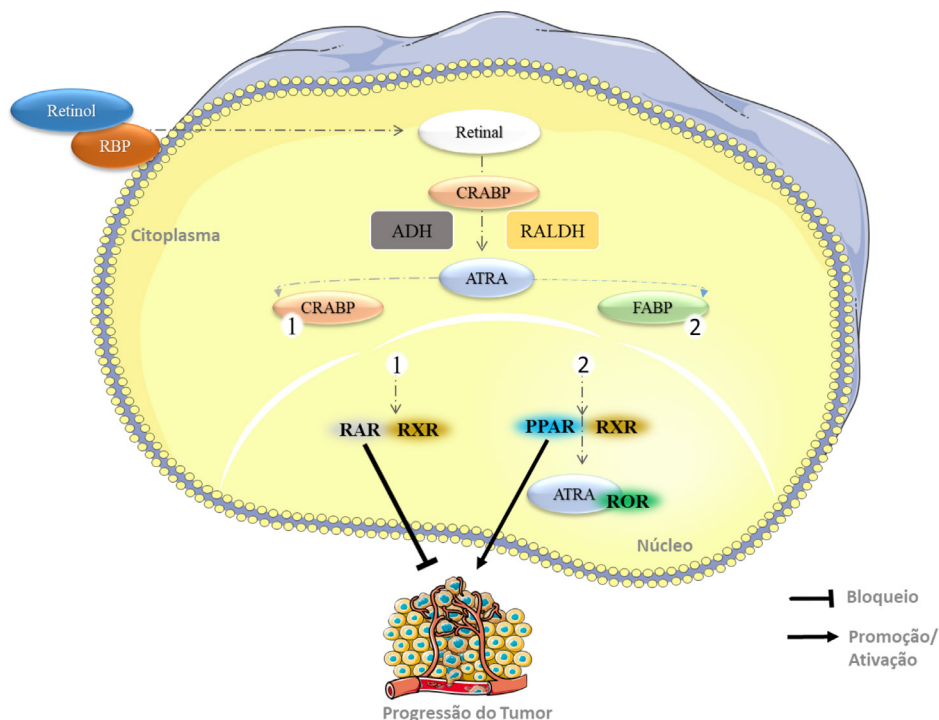
Legenda: ERO's: Espécies Reativas de Oxigênio; RAR: Receptor do Ácido Retinóico (*Retinoic Acid Receptor*); PPAR: Proliferadores de Peroxissoma Gama e Beta (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*); CRABP: Proteína Celular de Ligação ao Retinol (*Cellular Retinoic Acid Binding Protein*); NF-κβ: Fator Nuclear Kappa β (*Nuclear Factor Kappa β*); FABP: Proteína de ligação de ácidos graxos (*Fatty Acid Binding Protein*).

Fonte: Adaptada de Nogueira et al. (2020).

A CRABP1, por exemplo, embora seja o principal conector ao retinol, tem papel de natureza dual na carcinogênese. Os estudos mostram que a diminuição das concentrações intracelulares da CRABP1 e das reações metabólicas que o envolvem, parece fortemente associada ao aumento do risco tumorigênico no tecido mamário (HUGHES; PIONTKIVSKA, 2011; LIU et al., 2015).

Além disso, essas proteínas de ligação atuam na sinalização intracelular específica por meio da ativação de receptores nucleares, mediada pelo transporte de retinol e também de derivados, como o ácido trans retinóico ou all-trans retinóico (ATRA - *All-Trans-Retinoic Acid*). Em destaque, o receptor retinóide X (RXR), receptor do ácido retinóico (RAR - *Retinoic Acid Receptor*) e o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama e beta (PPAR δ/β - *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor δ/β*), quando ativados, traduzem respostas de melhora ou piora do estágio tumoral. Embora ainda não esteja completamente elucidado, estudos mostram que o RAR se relaciona à inibição do tumor e

angiogênese, enquanto o PPAR  $\delta/\beta$  estimula a progressão tumoral (Figura 4) (LIU et al., 2015; PERRI et al., 2017; SCHUG et al., 2007; SCHUG et al., 2008; TAVARES et al., 2007).



**Figura 4.** Retinol e a ativação de receptores nucleares como vias de promoção ou inibição da tumorigênese.

Legenda: RBP (Retinol Binding Protein); CRABP (Cellular Retinoic Acid Binding Protein 1); ADH (Alcohol dehydrogenase); RALDH (Retinaldehyde Dehydrogenase); ATRA (All-Trans-Retinoic Acid); FABP (Fatty Acid Binding Protein); PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor); RAR (Retinoic Acid Receptor); ROR (Retinoid-Related Organ Re-ceptors); LRAT (Lecithin Retinol Acyltransferase); ARAT (Acyl Coenzyme A Retinol Acyltransferase); RE (Retinol).

Fonte: Adaptada de Nogueira et al. (2020).

O ATRA tem sido relacionado à ativação e modulação de processos de transcrição, diferenciação, multiplicação e morte celular. Além disso, existem evidências científicas de que o ATRA não atua somente na prevenção do câncer de mama, mas também no tratamento adjuvante de outras neoplasias malignas, possivelmente por reconhecer o RAR e RXR (ALTUCCI et al., 2001; ALTUCCI; GRONEMEYER, 2001; REINHARDT et al., 2018; VERONESI et al., 2006).

Estudos sugerem que a vitamina A e/ou isótopos garantem a saúde celular, por meio de interações com moléculas de adesão (CAM) ou caderinas (CHD), aumentando a sua expressão e a de repressores transcricionais, como o

hBPI, importante regulador negativo da via Wnt. A inibição dessa via resulta em diminuição da superexpressão de genes relacionados ao crescimento e invasão celular. O ATRA também foi associado à inibição de agentes danosos ao DNA, à redução da atividade de quinases de cadeia leve capazes de fosforilar reguladores de miosina (MCLK) e à metástase de células tumorais (KIM; HELFMAN, 2016; TONG et al., 2017; WU et al., 2018).

Além disso, o isômero do ATRA, chamado de ácido 9-cis-retinóico, produzido fisiologicamente pelo metabolismo celular tem papel na carcinogênese. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram (WANG et al., 2017a; WANG et al., 2017b) que a ligação desse isômero aos receptores RAR e RXR promoveu a apoptose de células cancerígenas, bem como desacelerou o ciclo celular, representando um promissor agente terapêutico, de efeito antitumoral em muitos tipos de câncer, inclusive da neoplasia mamária (FLODROVA et al., 2015; MAENG et al., 2012).

Outro mecanismo inclui a ação da enzima aldeído desidrogenase (ALDH, especificamente a ALDH1A1) no metabolismo do retinol, resultando na formação do ácido 9-cis-retinóico. Concentrações elevadas de ALDH1A1 foram fortemente associadas com metástase, crescimento tumoral e piora do quadro clínico de mulheres com câncer de mama. Os resultados, entretanto, devem ser interpretados com cautela, considerando que as concentrações de ALDH1A1 podem estar tendenciosamente aumentadas em mulheres na menopausa (WANG et al., 2017b; ZHOU et al., 2015).

#### **1.4 EFEITO SINÉRGICO: VITAMINA A (E/OU ISOFORMAS) E ÔMEGA-3 NO CÂNCER DE MAMA**

O despertar dos pesquisadores em oncologia para o estudo de efeitos sinérgicos entre substâncias, inclui os potenciais relativos à eficácia terapêutica e otimização de benefícios específicos. Essas possibilidades caracterizam-se como estratégias terapêuticas e de entendimento metabólico de doenças complexas e multifatoriais, como o câncer (CASANOVA; COSTA, 2017).

Alguns dos principais metabólitos da vitamina A, a exemplo do ATRA, são amplamente utilizados no tratamento de diferentes tumores, embora frequentemente o seu potencial antitumoral seja comprometido em decorrência dos níveis elevados de citotoxicidade intrínseca e do uso de altas doses medicamentosas no manejo dos tumores malignos (CHEN et al., 2014; NGUYEN et al., 2016; TOMA et al., 1997). Isso permite inferir que existe uma baixa probabilidade de que o ATRA, como medicamento, desempenhe a eficácia esperada em cânceres de mama, se usado isoladamente. Por isso, a combinação desse e de outros metabólitos da vitamina A com compostos estratégicos, pode minimizar as perdas e potencializar o papel destes no tratamento da neoplasia mamária.

Atualmente, algumas linhas de pesquisas *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que a associação de ácidos graxos poli-insaturados (AGP's), especificamente o ômega-3 ou seus metabólitos, pode melhorar o prognóstico clínico de mulheres com câncer de mama, bem como pode ativar vias apoptóticas, reduzindo ou inibindo o avanço da tumorigênese em diferentes tipos de células cancerígenas (HARDMAN, 2004; SUN et al., 2011; KANG et al., 2010).

Estudos clínicos mostraram que os AGP's conseguem melhorar a eficácia dos medicamentos utilizados no tratamento quimioterápico, a exemplo do tamoxifeno, docetaxel e propriamente do ATRA (ABDOLAHY et al., 2016; CHAUVIN et al., 2016; DEGRAFFENRIED et al., 2003; WANNOUS et al., 2013). Semelhantemente, outros achados evidenciaram que a combinação de ATRA e AGP's traduz sinergicamente o efeito inibidor do crescimento celular em três subtipos moleculares de câncer de mama (ER+, receptor de estrogênio positivo; PR+, receptor de progesterona positivo e HER2++, receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 superexpresso). Na relação entre tipo de câncer e receptores nucleares, geralmente, as células de câncer de mama negativo para receptor de estrogênio (ER-) apresentam pouca responsividade a RAR $\alpha$ , o que as tornam mais resistentes ao tratamento medicamentoso com ATRA. Essa resistência é diminuída no tratamento combinado de ATRA com AGP's, observando-se evolução benéfica no quadro clínico das pacientes com o subtipo molecular ER- (LIN et al., 2017).

O aumento da sensibilidade ao ATRA no tratamento combinado com AGP's sugere atuação sinérgica desses compostos como agentes de quimioprevenção nos três subtipos moleculares de câncer de mama supramencionados (ER+, PR+ e HER2++). Assim, é oportuno ressaltar que características celulares e específicas do tumor devem ser consideradas, principalmente na atuação a nível molecular, visto que o rastreamento do ciclo celular é um mecanismo crucial para o controle e desencadeamento das fases de proliferação (PUCCI-MINAFRA et al., 2017).

No câncer, considerando que a apoptose é o gatilho mais comum no processo suicida das células tumorais, destaca-se o papel das caspases. Essas proteínas são mediadoras de vias apoptóticas, sendo responsáveis por induzir a clivagem de moléculas tumorigênicas, como resposta ao tratamento oncológico, sobretudo no contexto de manejos combinados de ATRA e AGP's (TARI et al., 2002). Em estudo realizado por Li et al. (2017) foi possível observar que, ao acrescentar o bloqueador da caspase BOC-D-FMK e Z-VAD-FMK, houve diminuição progressiva do efeito benéfico dos AGP's utilizados em combinação ao ATRA.

Apesar desse achado, ao observar o efeito do sinergismo proposto em células MCF7, de linhagem de câncer de mama, foi possível reconhecer

a ocorrência de eventos apoptóticos mesmo na ausência de caspase-3. Esse achado pode ser explicado devido à atuação de caspases de substituição, como as caspases 6 e 7, que também regulam a apoptose, sugerindo o envolvimento destas na promoção de atividades pró-apoptóticas como resposta a vias sinérgicas (BRETNALL et al., 2013).

Além disso, os estudos citam o efeito sinérgico do tratamento combinado de ATRA e AGP's, na relação com a expressão de outras proteínas. A proteína p53, considerada guardião do genoma, perde a capacidade apoptótica após passar por mutações que modificam sua estrutura funcional. Em situações de mutação e inatividade dessa proteína, estudos mostraram que o tratamento combinado de ATRA e AGP's consegue desencadear a morte celular de forma independente da p53 (CHAO, 2015; TARI et al., 2002; ZAMBETTI; LEVINE, 1993).

A principal justificativa relatada para a utilização do ATRA combinado a AGP's baseia-se na redução dos efeitos colaterais provenientes do uso isolado dessa isoforma de vitamina A, os quais podem ser prejudiciais ao fígado, sistema cardiovascular, pele e metabolismo de lipídeos, aumentando o risco de complicações, como a hipertrigliceridemia (TARI et al., 2002). Assim, além de otimizar a resposta benéfica ao tratamento de tumores mamários malignos, o uso combinado destes nutrientes, contribui para manutenção da homeostase celular e remissão da doença, além da regulação das concentrações séricas de triglicédeos e redução do risco cardiometabólico (SCHULTZE et al., 2018).

Apesar das evidências mencionadas, ressalta-se a necessidade de que mais estudos sejam realizados, na perspectiva de elucidar os mecanismos e vias metabólicas envolvidas nos efeitos sinérgicos do ATRA e AGP's, bem como rastrear implicações nos diferentes subtipos moleculares do câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

- ABDOLAH, M. et al. The combined effects of all-trans-retinoic acid and docosahexaenoic acid on the induction of apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells. **J Cancer Res Ther**, v.12, p.204–208, 2016.
- ABRANCHES, M.V. et al. Antioxidant vitamins and cytokines are altered in breast cancer. **Eur J Cancer Prev**, v.20, p.403-410, 2011.
- ALTUCCI, L. et al. Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL. **Nat Med**, v.7, p.680-686, 2001.
- ALTUCCI, L.; GRONEMEYER, H. The promise of retinoids to fight against cancer. **Nat Rev Cancer**, v.1, p.181-193, 2001.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova**, v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde (BR). **Manual de Bases Técnicas de Oncologia – SIA/SUS – Sistema de Informações Ambulatoriais**. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2019.

BRENTNALL, M. et al. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. **Bmc Cell Biology**, v.14, 2013.

CASANOVA, L.M.; COSTA, S.S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Rev. Virtual Quim**, v.9, n.2, p.575-595, 2017.

CHAO, CC. Mechanisms of p53 degradation. **Clin Chim Acta**, v.438, p.139–147, 2015.

CHAUVIN, L. et al. Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids increase the efficacy of docetaxel in mammary cancer cells by downregulating Akt and PKC $\epsilon$  / $\delta$ -induced ERK pathways. **Biochim Biophys Acta**, v.1861, p.380–390, 2016.

CHEN, M.C. et al. Retinoic acid and cancer treatment. **Biomedicine (Taipei)**, v.4, p.22, 2014.

CHMURZYŃSKA A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. **J. Appl. Genet.** v.47, p. 39-48, 2006.

CI, Y.; QIAO, J.; HAN, M. Molecular Mechanisms and Metabolomics of Natural Polyphenols Interfering with Breast Cancer Metastasis. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 1634, 2016.

DAWSON, H.D. et al. Regulation of hepatic vitamin A storage in a rat model of controlled vitamin A status during aging. **J Nutr**, v. 130, n. 5, p. 1280-1286, 2000.

DEGRAFFENRIED, L.A. et al. Eicosapentaenoic acid restores tamoxifen sensitivity in breast cancer cells with high Akt activity. **Ann Oncol**, v.14, p.1051–1056, 2003.

FLODROVA, D. et al. Proteomic analysis of changes in the protein composition of MCF-7 human breast cancer cells induced by all-trans retinoic acid, 9-cis retinoic acid, and their combination. **Toxicol Lett.** v.232, p.226-232, 2015

HARDMAN, W.E. (n-3) fatty acids and cancer therapy. **J Nutr**, v.134, p.3427S–3430S, 2004.

HUGHES, A.L.; PIONTKIVSKA, H. Evolutionary diversification of the avian fatty acid-binding proteins. **Gene**, v.490, n.1-2, p.1-5, 2011.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**, 2001.

JASON, J. et al. Vitamin A Levels and Immunity in Humans. Clinical and Diagnostic Laboratory. **Immunology**, v. 9, n. 3, p.616-621, 2002.

KAINOV, Y. et al. CRABP1 provides high malignancy of transformed mesenchymal cells and contributes to the pathogenesis of mesenchymal and neuroendocrine tumors. **Cell Cycle**, v. 13, n. 10, p.1530-1509, 2014.

KANG, K.S. et al. Docosahexaenoic acid induces apoptosis in MCF-7 cells in vitro and in vivo via reactive oxygen species formation and caspase 8 activation. **PLoS One**, v.5, p.10296, 2010.

KIM, D.Y.; HELFMAN, D.M. Loss of MLCK leads to disruption of cell-cell adhesion and invasive behavior of breast epithelial cells via increased expression of EGFR and ERK/JNK signaling, **Oncogene**, v.35, p.4495–4508, 2016.

LAROCHE, D. et al. Evaluation of Antioxidant Intakes in Relation to Inflammatory Markers Expression with in the Normal Breast Tissue of Breast Cancer Patients. **Integrative Cancer Therapies**, v.16, n. 4, p. 485-495, 2017.

LI, C. et al. Inhibitory Effects of Retinol Are Greater than Retinoic Acid on the Growth and Adhesion of Human Refractory Cancer Cells. **Biol Pharm Bull**, v.39, p.636-640, 2016.

LIN, G. et al.  $\omega$ -3 free fatty acids and all-trans retinoic acid synergistically induce growth inhibition of three subtypes of breast cancer cell lines. **Scientific reports**, v.7, p.2929, 2017.

LIU, R.Z. et al. CRABP1 is associated with a poor prognosis in breast cancer: adding to the complexity of breast cancer cell response to retinoic acid. **Molecular Cancer**, v.14, n.129, 2015.

MAENG, S. et al. 9-Cis-retinoic acid induces growth inhibition in retinoid-sensitive breast cancer and sea urchin embryonic cells via retinoid X receptor  $\alpha$  and replication factor C3. **Mol Endocrinol**. v.26, p.1821-1835, 2012.

MAYO-WILSON, E. et al. Vitamin A supplements for preventing mortality, illness, and blindness in children aged under 5: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v.343, p.5094, 2011.

MELO-CAVALCANTE, A.A.C. et al. Retinol palmitate and ascorbic acid: Role in oncological prevention and therapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.109, p.1394–1405, 2019.

MEZQUITA, B. et al. All-trans-retinoic acid activates the pro-invasive Src-YAP-Interleukin 6 axis in triple-negative MDA-MB-231 breast cancer cells while cerivastatin reverses this action. **Scientific Reports**, v.8, p.7047, 2018.



- MORGILLO, F. et al. Carcinogenesis as a result of Multiple Inflammatory and Oxidative Hits: A Comprehensive Review from Tumor Microenvironment to Gut Microbiota. **Neoplasia**, v.20, p.721–733, 2018.
- MURAI, A. et al. Characterization of critical factors influencing gene expression of two types of fatty acid-binding proteins (L-FABP and Lb-FABP) in the liver of birds. **Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol.** v.154, p.216-223, 2009.
- NATTENMÜLLER, C.J. et al. Obesity as risk factor for subtypes of breast cancer: results from a prospective cohort study. **BMC Cancer**. v. 18, n.1, p. 616, 2018.
- NGUYEN, P.H. et al. All-trans retinoic acid targets gastric cancer stem cells and inhibits patient-derived gastric carcinoma tumor growth. **Oncogene**, v.35, p.5619–5628, 2016.
- NOGUEIRA, T.R. et al. Vitamin A: Modulating Effect on Breast Carcinogenesis. **Current Nutrition & Food Science**, v.17, p.1-8, 2020.
- ODDY, W.H. et al. Dietary patterns, body mass index and inflammation: pathways to depression and mental health problems in adolescents. **Brain Behav Immun**, v.69, p.428-439, 2018.
- PAULA, T.P. et al. Aspectos metabólicos da vitamina A e doença hepática alcoólica. **Rev. Nutr., Campinas**, v.19, n.5, p.601-610, 2006.
- PERRI, M. et al. 9-cis Retinoic acid modulates myotrophin expression and its miR in physiological and pathophysiological cell models. **Exp Cell Res**, v.354, n.1, p.25-30, 2017.
- PUCCI-MINAFRA, I. et al. Retrospective proteomic screening of 100 breast cancer tissues. **Proteomes**, v.5, n.15, 2017.
- RAMALHO, A. Vitamina A: ILSI Brasil International Life Sciences. Série de publicações. **ILSI BRASIL: Funções plenamente reconhecidas de nutrientes**, v.4, 2010.
- RAMALHO, R.A.; ACCIOLY, E.; SILVA, L. M. Doenças Cardiovasculares: efeito antioxidante das vitaminas A C e E. **Rev Metabol Nutr**, v. 17, n. 1, p. 6-9, 2003.
- REINHARDT, A. et al. Tumor Cell-selective Synergism of TRAIL- and ATRA-induced Cytotoxicity in Breast Cancer Cells. **Anticancer Research**, v.38, p.2669-2682, 2018.
- ROSS, C.A. Vitamina A. In: Coates PM, Betz JM, Blackman MR, et al., Eds. Enciclopédia de suplementos alimentares. 2nd ed. Londres e Nova York: Informa Healthcar, p.778-91, 2010.
- SCHUG, T.T. et al. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors. **Cell**, v.129, p.723-733, 2007.

SCHUG, T.T. et al. Overcoming retinoic acid-resistance of mammary carcinomas by diverting retinoic acid from PPARbeta/delta to RAR. **Proc Natl Acad Sci**, v.108, p.7546-7551, 2008.

SCHULTZE, E. et al. Synergistic and additive effects of ATRA in combination with different anti-tumor compounds. **Chem Biol Interact**. v.1, n.285, p.69-75, 2018.

SINATRA, S.T.; DEMARCO, J. Free radicals, oxidative stress, oxidized low density lipoprotein (LDL) and the heart: antioxidants and other strategies to limit cardiovascular damage. **Conn Med**. v.50, n.10, p.579-88, 1995.

SOLOMONS, N.W. Vitamina A. In: Bowman B, Russell R. **Presente conhecimento em nutrição**. 9a ed. Washington, DC: Instituto Internacional de Ciências da Vida; p.157-83, 2006.

SUN, H. et al. Omega-3 fatty acids induce apoptosis in human breast cancer cells and mouse mammary tissue through syndecan-1 inhibition of the MEK-Erk pathway. **Carcinogenesis**, v.32, p.1518–1524, 2011.

TANG, X.H.; GUDAS, L.J. Retinoids, retinoic acid receptors, and cancer. **Annu Rev Pathol.**, v. 6, p. 345-364, 2011.

TANUMIHARDJO, S.A. Vitamin A: biomarkers of nutrition for development. **Am J Clin Nutr**, v.94, p.658S-65S, 2011.

TARI, A.M. et al. Her2/neu induces all-trans retinoic acid (ATRA) resistance in breast cancer cells. **Oncogene**, v.21, p.5224–5232, 2002.

TAVARES, V.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.D.C. Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ): Estudo Molecular na Homeostase da Glicose, Metabolismo de Lipídeos e Abordagem Terapêutica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 4, p. 526- 533, 2007.

TOMA, S. et al. Effects of all-trans-retinoic acid and 13-cis-retinoic acid on breast-cancer cell lines: growth inhibition and apoptosis induction. **Int J Cancer**, v.70, p.619–627, 1997.

TRAN, L.S.; CHONWERAWONG, M.; FERRERO, R.L. Regulation and functions of inflammasome-mediated cytokines in Helicobacter pylori infection. **Microbes Infect**. v.19, p.449-458, 2017.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2019.

VERONESI, U. et al. Fifteen-year results of a randomized phase III trial of fenretinide to prevent second breast cancer. **Ann Oncol** v.17, p.1065-1071, 2006.

WANG, B. et al. Aldehyde dehydrogenase 1A1 increases NADH levels and promotes tumor growth via glutathione/dihydrolipoic acid-dependent NAD<sup>+</sup> reduction. **Oncotarget**. v.8, p. 67043-67055, 2017a.

WANG, J. et al. Garcinol from *Garcinia indica* downregulates cancer Stem-like cell biomarker ALDH1A1 in nonsmall cell lung cancer A549 cells through DDIT3 activation. **J Agric Food Chem**, v.65, p. 3675-3683, 2017b.

WANNOUS, R. et al. PPARbeta mRNA expression, reduced by n-3 PUFA diet in mammary tumor, controls breast cancer cell growth. **Biochim Biophys Acta**, v.1831, p.1618–1625, 2013.

WU, J. et al. Metabolomics research on potential role for 9-cis-retinoic acid in breast cancer progression. **Cancer Science**. p.1-12, 2018.

ZAMBETTI, G.P.; LEVINE, A.J. A comparison of the biological activities of wild-type and mutant p53. **FASEB J**, v.7, p.855–865, 1993.

ZHOU, Y. et al. Clinicopathological significance of ALDH1A1 in lung, colorectal, and breast cancers: a meta-analysis. **Biomark Med**. v.9, p.777-790, 2015.

ZUO, L. et al. All-trans retinoic acid inhibits human colorectal Cancer cells RKO migration via downregulating myosin light chain kinase expression through MAPK signaling pathway, **Nutr. Cancer**, v.68, p.1225–1233, 2016.

# Capítulo 2

## Vitamina D e o Câncer de Mama

*João Paulo da Silva-Sampaio  
Denilson de Araújo e Silva  
Carla Solange de Melo Escórcio Dourado  
Mayara Santos da Silva  
Luana Mota Martins  
Tatiana Vieira Souza Chaves*

### 2.1 INTRODUÇÃO

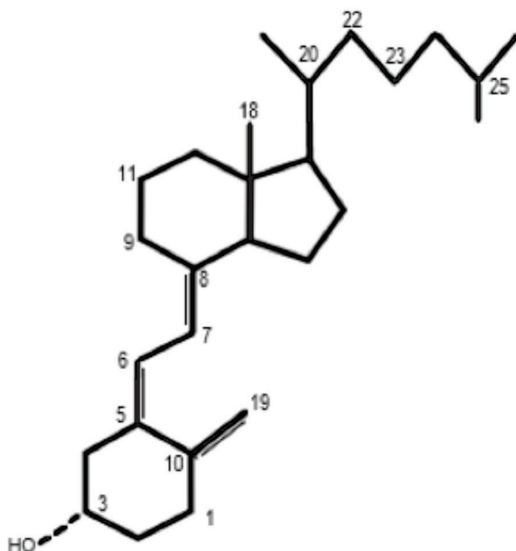
O câncer de mama é uma doença multifatorial que envolve um desequilíbrio entre fatores genéticos, dietéticos, hormonais e reprodutivos, sendo determinada principalmente pela ocorrência de mutações ou de alguma ativação anormal de genes que controlam o crescimento e a proliferação celular (SILVA et al., 2012). A mamografia, aliada ao exame clínico das mamas, são instrumentos fundamentais para um diagnóstico precoce da doença, no entanto o diagnóstico desta neoplasia é, na maioria das vezes, estabelecido em uma fase tardia em países em desenvolvimento, o que justifica os elevados índices de mortalidade (ABREU; KOIFMAN, 2002; THULER, 2003).

Nas últimas décadas, o câncer tornou-se um evidente problema de saúde pública, sendo estimados 27 milhões de novos casos para o mundo até o ano de 2030. A incidência de câncer na população tem aumentado significativamente, tendo como principais fatores causais o estilo de vida e a longevidade. Dentre os tipos de câncer, o da mama é a principal causa de morte por câncer nas mulheres em todo o mundo, com cerca de 520 mil mortes estimadas no ano de 2012 (INCA, 2014). Para o ano de 2016, no Brasil, foram estimados 57.120 casos novos de câncer de mama, com um risco estimado de 56,09 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2015).

Devido alto índice de mortalidade do câncer de Mama, vem aumentando o desenvolvimento de técnicas genômicas que proporcionam a elucidação de mecanismos envolvidos na carcinogênese, em destaque, para genes da regulação e diferenciação celular (DELMONICO; ALVES; AMARAL, 2015). Nesse sentido, estudos epidemiológicos recentes têm chamado atenção para uma possível associação entre o gene do Receptor da Vitamina D e o câncer.

## 2.2 VITAMINA D – Colecalciferol

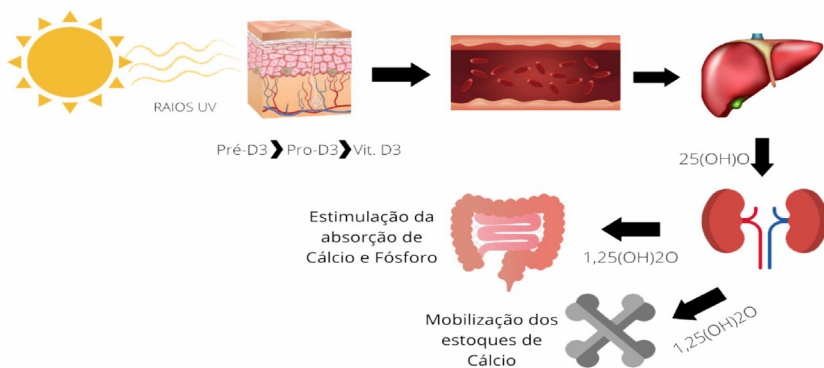
A vitamina D, ou colecalciferol (Figura 1), é um hormônio esteroide e não exatamente uma vitamina com sua estrutura molecular assemelha-se a de hormônios esteroides como estradiol, cortisol e aldosterona (MARQUES et al., 2010; NORMAN, 2012). Sua principal função consiste na regulação da homeostase do cálcio, formação e reabsorção óssea, através da sua interação com as paratireoides, os rins e os intestinos (ARNSON; AMITAL; SHOENFELD, 2007).



**Figura 1.** Estrutura Química do Colecalciferol – Vitamina D.

Fonte: Elaboração dos autores.

A principal fonte da vitamina D é representada pela formação endógena nos tecidos cutâneos após a exposição à radiação ultravioleta B (LEVENTIS; PATEL, 2008). A partir da exposição aos raios ultravioleta B (UVB), o 7-deidrocolesterol, esteróide presente na derme e epiderme, é transformado em vitamina D<sub>3</sub>. Esta forma não metabolicamente ativa é transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação, tornando-se a 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] ou calcidiol. A produção da 25(OH)D no fígado, além de rápida, sofre pouca regulação. Deste modo, seus níveis plasmáticos refletem a reserva corporal de vitamina D. Para se tornar ativa, a vitamina D necessita ainda de uma última hidroxilação, que ocorre nos rins, sob ação da enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase, transformando-se em 1,25 dihidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] ou calcitriol conforme mostra a figura 2 (PEDROSA; CASTRO, 2005).



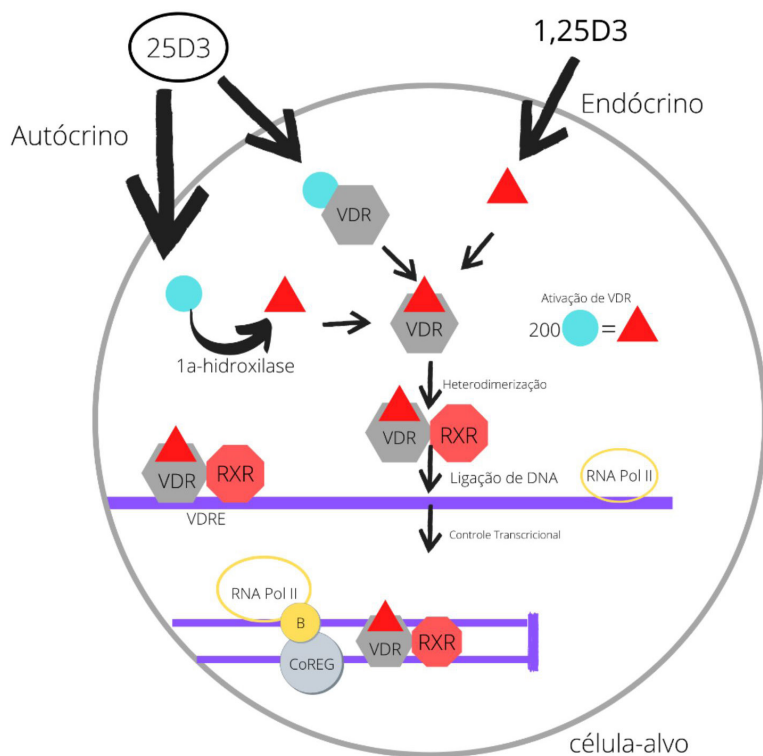
**Figura 2.** Metabolismo da Vitamina D

Fonte: Elaboração dos autores.

Além de sua ação na homeostase do cálcio, a vitamina D exerce ações diretas ou indiretas em mais de 200 genes envolvidos na regulação do ciclo celular, diferenciação, apoptose e angiogênese, promovendo ou inibindo a proliferação de células normais ou neoplásicas (BOUILLON et al., 2006; BONETI; FAGUNDES, 2013). A vitamina D atua via mecanismo genômico onde tem papel central, o receptor da Vitamina D (VDR), uma fosfoproteína que é membro da super família de receptores nucleares (VAN SCHOOR; LIPS, 2000).

### 2.3 RECEPTOR DE VITAMINA D (RVD)

O receptor da vitamina VDR pertencente à família dos receptores hormonais presentes no núcleo (OZONO, 1991). Apesar do VDR, em sua forma livre, estar presente no citoplasma (GRONEMEYER et al., 2004), quando se liga à forma ativa da vitamina D ( $1\alpha, 25$ dihidroxitamina D3 [ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ] ou calcitriol), transloca-se para o núcleo, onde irá associar-se a promotores de diversos genes modulando a expressão dos mesmos, produzindo múltiplos efeitos biológicos (ISSA; LEONG; EISMAN, 1998; BAKER et al., 1988). Além disso, o VDR forma heterodímero com o receptor do ácido retinóico RXR, que age como um fator transcricional, ligando-se a elementos de resposta à vitamina D (VDRE), que consiste em duas sequências de seis nucleotídeos repetidos, mas separadas por três nucleotídeos aleatórios, sequências estas contidas em regiões promotoras de genes responsivos a vitamina D (Figura 3), entre eles, osteocalcina (KERNER et al., 1989), 24 hidroxilase (OHYAMA et al., 1994).



**Figura 3.** Mecanismo de Ação do Receptor de Vitamina D (VDR).

Fonte: Elaboração dos autores.

Contudo, estudos têm relatado níveis séricos de 1,25 dihidroxivitamina D em pacientes com câncer de mama são menores quando comparadas a mulheres sem câncer de mama ou controles. Por sua vez, a expressão tecidual do receptor de vitamina D (VDR), 1αhidroxilase e 24 hidroxilase foram similares em tumores malignos da mama e tecido mamário normal (MILANE et al., 2013).

A identificação da expressão do receptor de vitamina D (VDR) na maioria das células normais e cancerígenas e a descoberta que algumas células também apresentam mecanismo relacionado com a complexação de 1,25-dihidroxivitamina D e o receptor de vitamina D (VDR), que estimula a expressão de muitas enzimas que codificam genes responsáveis pela diferenciação celular ou apoptose, têm mostrado evidências da influência desta vitamina na patogenia de algumas neoplasias (BONETI; FAGUNDES, 2013; LACZMANSK et al., 2017). Este conceito prevê que a vitamina D pode ter relevância para prevenção e tratamento do câncer de mama (WELSH, 2007).

A propósito, os polimorfismos do gene do VDR podem ser de importância para o câncer. Polimorfismos são definidos como mutações de pelo menos 1%

dos alelos em uma determinada população. Variações da sequência de DNA que ocorrem frequentemente na população podem ter efeitos biológicos modestos, mas reais. Por causa da abundância do genoma humano, ele tem sido utilizado com o objetivo de estudar variações no risco para doenças comuns (KÖSTNER et al., 2009); Os seres humanos carregam um grande número de polimorfismos que podem conduzir diferentes efeitos celulares devido a vários mecanismos, tais como transcrição reduzida, pós-transcrição ou pós-tradução alterada ou alterações terciárias no produto do gene (ABBAS et al., 2008).

O gene do VDR humano está localizado no braço longo do cromossomo 12 na região q12-14. Variantes alélicas comuns foram identificadas no gene VDR (PEDEUTOUR et al., 1994). Os primeiros estudos de polimorfismo do VDR foram feitos utilizando parâmetros de metabolismo ósseo, especialmente osteoporose (UITTERLINDEN, 2001). As abordagens do gene desta região relataram polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) para serem associados a várias doenças importantes, incluindo câncer de pulmão (FU; LI; ZHANG, 2014), câncer de ovário (SONG; LEE, 2013), câncer de próstata, pele, colorretal, ovário e da bexiga, carcinoma de células renais e câncer de mama (KÖSTNER et al., 2009; LEE; SONG, 2014).

## 2.4 RECEPTOR DA VITAMINA D E O CÂNCER DE MAMA

O VDR está presente numa variedade de tipos de células, incluindo células malignas e normais da mama (ABBAS et al., 2008). Uma vez descoberto que o VDR é um mediador da via de vitamina D, os polimorfismos genéticos do VDR têm sido investigados como fatores de risco de muitos tipos de câncer (GRANT et al., 2013; HUANG et al., 2013; AZAD et al., 2013). Vários estudos têm avaliado associações entre vários polimorfismos no gene VDR e o risco de câncer de mama, com resultados inconsistentes. Estes polimorfismos incluem frequentemente três análises de polimorfismo de nucleotídeos único (SNPs): BsmI, FokI e TaqI em extremidade 3' do gene VDR.

Atualmente, poucos estudos investigaram a associação entre o polimorfismo ApaI do gene VDR e o câncer de mama e com resultados contraditórios (CURRAN et al., 1999; HOU et al., 2002; SILLAPAA et al., 2004; YANG et al., 2012; LUO et al., 2014; REIMERS et al., 2015; ABD-ELSALAM et al., 2015).

A população brasileira é caracterizada por uma significativa diversidade genética que é o resultado de uma rica miscigenação racial, principalmente de descendentes de Europeus, Africanos e populações nativas. Por conseguinte, a distribuição de variantes genômicas na população brasileira em geral não mostra um padrão consistente, como é observado em outros países cujas populações



são predominantemente caucasianas, africanas ou asiáticas (QIAN et al., 2008; BARMANIA; ZWOLIŃSKA et al., 2013). Portanto, a população de cada estado brasileiro deve ser estudada para esclarecer a distribuição de polimorfismos genéticos que são relevantes dentro do contexto da saúde pública.

O VDR mede principalmente as atividades anticancerígenas de vitamina D (SILLANPAA et al., 2004; YANG et al., 2012; DALESSANDRI et al., 2012; CHAKRABORTY et al., 2009). Alguns estudos investigaram a associação entre o polimorfismo ApaI do gene VDR e o câncer de mama, mas os resultados não foram conclusivos (LUO et al., 2014). Até onde se investigou, há uma escassez de estudos do polimorfismo do gene VDR na população brasileira, em particular a variante ApaI (rs7975232) em relação ao câncer de mama.

Em um estudo conduzido por Curran et al. (1999) que investigaram o mesmo polimorfismo e o risco para o câncer de mama em 135 casos e 110 controles, observou-se que os genótipos Aa e aa foram significativamente associados ao aumento do risco de câncer de mama. Assim como Reimers et al. (2015), que encontraram uma associação do polimorfismo ApaI e o aumento do risco para o câncer de mama nos genótipos Aa e aa.

Já, Abd-Elsalam et al. (2015) encontraram em mulheres egípcias (130 casos e 100 controles), um aumento significativo do risco de câncer de mama entre as mulheres portadoras de genótipo aa em comparação com mulheres portadoras de genótipo AA, enquanto que nenhum risco significativo foi observado entre mulheres portadoras de genótipo Aa em comparação com aquelas portadoras de genótipo AA.

Por outro lado, resultados conflitantes foram relatados em um estudo taiwanês com 46 casos e 169 controles, onde foi observada uma tendência para o risco de câncer de mama para as mulheres com o genótipo AA, enquanto o genótipo Aa tendeu a ser associado a um risco reduzido, assim como o genótipo aa (HOU et al., 2002).

Além disso, um estudo finlandês conduzido com 483 casos e 482 controles observou um menor risco de câncer de mama nas mulheres com o genótipo aa quando comparado com o genótipo AA. As mulheres com o alelo a apresentaram menor risco de câncer de mama em relação ao genótipo AA, essa associação foi mais forte nas mulheres que apresentaram história familiar de câncer de mama (SILLANPÄÄ et al., 2004).

Estudos mostram que características menstruais e reprodutivas, são relevantes para o risco de câncer de mama ao longo da vida (TRENTHAM-DIETZ et al., 2015; LUBIN et al., 1982; PATHAK et al., 1986).

Um estudo com 928 casos e 843 controles, composto de afro-americanas e americanas de origem europeia, encontrou um aumento do risco para o câncer de mama nas americanas de origem europeia que apresentavam genótipo

homozigoto recessivo (aa), contudo essa associação foi limitada às mulheres em pós-menopausa (YAO et al., 2012).

Já, uma meta-análise que incluiu 11 estudos caso-controle com um total de 3.738 casos e 4.489 controles, forneceram uma avaliação mais precisa sobre a associação entre o polimorfismo ApaI do gene VDR e o câncer de mama. Onde não foi encontrada associação entre o câncer de mama entre o alelo a (aa e Aa) e Alelo A (ZHANG; SONG, 2014). Assim como em outra meta-análise com 12 estudos com um total de 8.254 sujeitos, não encontraram associação do alelo a vs. A com o câncer de mama (LUO et al., 2014).

Além disso, as variantes polimórficas do VDR podem afetar as concentrações séricas da vitamina D, pois o VDR está possivelmente envolvido na regulação do feedback negativo da síntese de 1,25 (OH) 2D mediada pela 1 $\alpha$ -hidroxilase, que é a enzima que converte 25(OH)D para 1,25(OH)2D ativo (TAKEYAMA et al., 1997).

Dados contraditórios nos estudos de associação podem ser resultados de diversos fatores dentre os quais podem ser citados a etnicidade, diferentes padrões de exposição a carcinógenos, combinações de variantes de susceptibilidade ou o número de pacientes investigados (BATAR et al., 2009).

## 2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos sugerem que níveis ideais de Vitamina D tem ação preventiva ao câncer de mama, ajudando, através do seu receptor (VDR), na regulação de mecanismos envolvidos na carcinogênese, em destaque, para genes da regulação e diferenciação celular.

## REFERÊNCIAS

- ABD-ELSALAM, E.A; ISMAEIL, N.A; ABD-ALSALAM, H.S. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk among postmenopausal Egyptian women. **Tumour Biol.**, v. 36, n. 8, p. 6425-6431, 2015.
- ABREU, E; KOIFMAN, S. Fatores prognósticos no câncer da mama feminina. **Rev. Bras. Cancerologia**, v.48, n.1, p. 113-131, 2002.
- ARNSON, Y; AMITAL, H; SHOENFELD, Y. Vitamin D and autoimmunity: new etiological and therapeutic considerations. **Ann Rheum Dis.**, v.66, n.1, p. 1137-1142, 2007.
- AZAD, A.K et al. Genetic sequence variants in vitamin D metabolism pathway genes, serum vitamin D level and outcome in head and neck cancer patients. **Int J Cancer**, v. 11, n. 132, p. 2520-2527, 2013.

BATAR, B. et al. DNA repair gene XPD and XRCC1 polymorphisms and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res.**, v.33, n.6, p.759-63, 2009.

BAKER, A.R. et al. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.85, n.10, p. 3294-3298, 1988.

BARMANIA, F; POTGIETER, M; PEPPER, M.S. Mutations in C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) in South African individuals. **Int. J. Infect. Dis.**, v.17, n.12, p.1148-1153, 2013.

BONETI, R.S; FAGUNDES, R.B. Vitamina D e câncer. **Revista da AMRIGS.**, v. 57, n.1, p. 71-77, 2013.

BOUILLON, R. et al. Vitamin D and cancer. **J Steroid Biochem Mol Biol.**, v. 102, n. 1, p. 156-162, 2006.

CHAKRABORTY, A. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism(s) and breast cancer risk in North Indians. **Cancer Detect Prev.**, v. 32, n. 2, p. 386-394, 2009.

CURRAN, J.E. et al. Association of a vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. **Int J Cancer**, v. 83, n. 3, p. 723-726, 1999.

DALESSANDRI, K.M. et al. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk in a high-incidence population: a pilot study. **J Am Coll Surg.**, v. 2015, n. 1, p. 652-657, 2012.

DELMONICO, L; ALVES, G; AMARAL, L.F. P. A Biologia Do Câncer De Mama E Testes Moleculares De Prognóstico. **Rev Hosp Pedro Ernesto**, v. 14, n. 1, p 59 – 65, 2015.

FU, Y; LI, J; ZHANG, Y. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the lung cancer risk. **Tumour Biol.** v. 35, n. 2, p. 1323–1330, 2014.

GRANT, D.J. et al. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and risk of ovarian cancer in Caucasian and African American women. **Gynecol Oncol.**, v. 1, n. 129, p. 173-178, 2013.

GRONEMEYER, H. et al. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. **Nat. Rev. Drug. Discov.**, v. 3, n. 11, p. 950-964, 2004.

HOU, M.F. et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with sporadic breast cancer in Taiwanese patients. **Breast cancer Res Treat.**, v. 74, n. 4, p. 1-7, 2002.

HUANG, J. et al. The association between the poly(A) polymorphism in the VDR gene and cancer risk: a meta-analysis. **Tumour Biol.**, v. 3, n. 34, p. 1833-1888, 2013.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Ministério da saúde. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2014:** Incidência de Câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Ministério da saúde. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2016:** Incidência de Câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2015.

ISSA, L.L; LEONG, G.M; EISMAN, J.A. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. **Inflamm Res.** , v. 12, n. 47, p. 451-475, 1998.

KERNER, S.A; SCOTT, R.A; PIKE, J.W. Sequence elements in the human osteocalcin gene confer basal activation and inducible response to hormonal vitamin D3. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 86, n. 12, p. 4455-4459, 1989.

KÖSTNER, K. et al. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. **Anticancer Res.**, v. 29, n. 9, p. 3511-3536, 2009.

LACZMANSKI, L. et al. Association of the vitamin D receptor FokI gene polymorphism with sex- and non-sex-associated cancers: A meta-analysis. **Tumour Biol.**, v. 39, n. 10, p. 1-8, 2017.

LEE, Y.H; SONG, G.G. Vitamin D receptor FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms and the susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. **Neoplasma**, v. 61, n. 5, p. 607-616, 2014.

LEVENTIS, P; PATEL, S. Clinical aspects of vitamin D in the management of rheumatoid arthritis. **Rheumatology.**, v. 47, n. 11, p. 1617-1621, 2008.

LUBIN, J.H. et al. Risk factors for breast cancer in women in northern Alberta, Canada, as related to age at diagnosis. **J Natl Cancer Inst.**, v. 68, p. 211-217, 1982.

LUO, S. et al. Vitamin D receptor gene ApaI polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. **Tumour Biol.**, v. 35, n. 1, p. 785-790, 2014.

MARQUES, C.D.L. et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Rev Bras Reumatol.**, v. 50, n. 1, p. 67-80, 2010.

MILANI, C. et al. Transcriptional effects of 1,25 dihydroxyvitamin D(3) physiological and supra-physiological concentrations in breast cancer organotypic culture. **BMC Cancer.** v. 15, n.13, p. 1-15, 2013.

NORMAN, A.W. The history of the discovery of vitamin D and its daughter steroid hormone. **Ann Nutr Metab.** v. 61, n. 3, p. 199-206, 2012.

OHYAMA, Y. et al. Identification of a vitamin D-responsive element in the 5'-flanking region of the rat 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase gene. **J Biol Chem.** v.269, n. 14, p. 10545-10550, 1994.

OZONO, K. et al. Perspectives: The genomic mechanism of action of 1,25 dihydroxyvitamin D3. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n. 10, p. 1021-1027, 1991.

PATHAK, D.R. et al. Parity and breast cancer risk: possible effect on age at diagnosis. **Int J Cancer.** v. 37, n. 1, p. 21-25, 1986.

PEDEUTOUR, F. et al. Mapping of the 12q12-q22 region with respect to tumor translocation breakpoints. **Genomics.** v. 22, n. 1, p. 512-518, 1994.

PEDROSA, M.A.C; CASTRO, M.L. Papel da vitamina D na função neuromuscular. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 49, n. 4, p. 495-502, 2005.

QIAN, Y. et al. Distribution of CCR5-Delta32, CCR2-64I, SDF1-3'A, CX3CR1-249I, and CX3CR1-280M in Chinese populations. **AIDS Res. Hum. Retroviruses.** v. 24, n. 11, p.1391-1397, 2008.

REIMERS, L.L. et al. Vitamin D-Related Gene Polymorphisms, Plasma 25-Hydroxyvitamin D, and Breast Cancer Risk. **Cancer Causes Control.** V. 26, v. 2, p. 187-203, 2015.

SILLANPÄÄ, P. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism as an important modifier of positive family history related breast cancer risk. **Pharmacogenetics.** v. 14, n. 1, p. 239-245, 2004.

SILVA, A.G. et al. Li- Fraumeni-like syndrome associated with a large BRCA 1 intragenetic deletion. **BMC Cancer.**, n.12, p.237, 2012.

SONG, G.G; LEE, Y.H. Vitamin D receptor FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms and susceptibility to ovarian cancer: a meta-analysis. **Immunol. Investig.**, v. 42, n. 7, p. 661-672, 2013.

TAKEYAMA, K. et al. 25-Hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase and vitamin D synthesis. **Science.** v. 277, n. 5333, p. 1827-1830, 1997.

THULER, L.C. Considerações sobre a prevenção do câncer de mama feminino / Considerations on the prevention of female breast cancer. **Rev. bras. Cancerol.**, v. 49, n. 4, p. 227-238, 2003.

TRENTHAM-DIETZ, A. et al. Modification of breast cancer risk according to age and menopausal status: a combined analysis of five population-based case-control studies. **Breast Cancer Res Treat.**, v. 145, n. 1, p. 165-175, 2014.

UITTERLINDEN, A.G. et al. Interaction between the Vitamin D receptor gene and collagen type I  $\alpha 1$  gene in susceptibility for fracture. **J Bone Miner Res.**, v. 16, n. 1, p. 379-385, 2001.

VAN SCHOOR, N.M; LIPS, P. Worldwide vitamin D status. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.**, v. 25, n. 4, p. 671-680, 2011.

WELSH, J. Vitamin D and prevention of breast cancer. **Acta Pharmacol Sin.**, v. 28, n. 1, p. 1373-1382, 2007.

YANG, L. et al. Protective role of the vitamin D receptor. **Cell Immunol.**, v. 279, n. 1, p. 160-166, 2012.

YAO, S. et al. Variants in the vitamin D pathway, serum levels of vitamin D, and estrogen receptor negative breast cancer among African-American women: a case-control study. **Breast Cancer Res.**, v. 14, n. 2, p. 1- 13, 2012.

ZHANG, K; SONG, L. Association between Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of 39 Studies. **PLoS ONE.**, v. 9, n. 4, p e96125, 2014.

ZWOLIŃSKA, K. et al. Protective effect of CCR5- $\Delta 32$  against HIV infection by the heterosexual mode of transmission in a Polish population. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 29, n.1, p. 54-60, 2013.

# Capítulo 3

## Cálcio e o Câncer de Mama

*Larysse Maira Cardoso Campos Verdes  
Isaac da Costa Sousa*

### 3.1 INTRODUÇÃO

O câncer é um grupo de doenças que envolvem a divisão celular contínua e descontrolada que tende a ser agressiva, determinando a formação de tumores primários, que podem espalhar-se e invadir outros órgãos do corpo humano, por isso é considerado a principal causa de morte e a barreira mais importante para aumentar a expectativa de vida em todos os países do mundo no século XXI (INCA, 2020; MICALIZZI; MAHESWARAN, 2018; BRAY et al., 2018).

O câncer de mama é a neoplasia mais prevalente e principal causa de morte que afeta a população feminina mundial. Em mulheres brasileiras são estimados aproximadamente 66.280 casos novos para o ano de 2020 (INCA 2020; HARBECK; GNANT, 2017).

A neoplasia mamária é uma patologia heterogênea de etiologia desconhecida, e vários fatores aumentam o risco para o câncer de mama incluindo-se fatores de risco ambientais e genéticos que podem ser não modificáveis, como raça, etnia, histórico familiar de câncer e variantes genéticas, além de exposições modificáveis relacionadas ao sedentarismo, hormônios exógenos, certos fatores reprodutivos femininos e dieta inadequadas (COUGHLIN; CYPEL, 2013). Nesse sentido, a nutrição do indivíduo pode modificar o processo carcinogênico em qualquer estágio, incluindo metabolismo do carcinógeno, defesa celular e do hospedeiro, diferenciação celular e crescimento do tumor. Assim, a expressão gênica pode ser promovida ou alterada por nutrientes durante todas as fases da vida (MAHAN; RAYMOND, 2018).

A propósito, o cálcio pode desempenhar um papel protetor na carcinogênese da mama devido à sua importância na regulação da proliferação, diferenciação e apoptose celular (LI et al., 2013). Nessa visão este mineral demonstrou ter efeitos antiproliferativos e pró-diferenciação nas células mamárias e pareceu inibir o desenvolvimento de tumores mamários em pesquisas realizadas com animais (HIDAYAT et al., 2016).

Algumas evidências em estudos epidemiológicos de ingestão de cálcio indicam que o potencial anti-carcinogênico do cálcio depende de sua inter-relação e correlação com a vitamina D. No entanto, estudos experimentais sugerem que um nível aumentado de cálcio por si só é suficiente para desencadear a apoptose (ABBAS et al., 2012). Em vista disso, a quantidade de ingestão de cálcio na dieta pode afetar a associação com o risco de câncer de mama (QIN et al., 2020).

Por outro lado, outras pesquisas mostraram que uma vez instalado o câncer mamário, o receptor sensível ao cálcio (CaSR) parece estimular a secreção da proteína relacionada ao hormônio da paratireoide (PTHrP), o que estimula a proliferação celular (KIM; WYSOLMERSKI, 2016).

Assim, devido ao câncer de mama ser uma doença de etiologia multifatorial e alta incidência em mulheres no mundo. A propósito, por haver relação do cálcio e o risco ao câncer de mama foi o que nos levou ao interesse de discutir o papel do cálcio na carcinogênese mamária.

### 3.2 CÁLCIO

O cálcio é o mineral mais abundante no corpo humano (MAHAN; RAYMOND, 2018). Aproximadamente 99% desse micronutriente estão presentes nos ossos e nos dentes, como fosfato de cálcio e o 1% restante está disponível no sangue, líquido extracelular e tecidos moles, onde desempenha papéis importantes em diversas funções fisiológicas (WAITZBERG, 2017).

Garantir a ingestão adequada de cálcio durante toda a vida útil é essencial para maximizar o pico de massa óssea e na formação dentária, além disso, ele influencia as funções de transporte de membrana e estabilidade, transporte de íons através de organelas celulares, na liberação de neurotransmissores nas ligações sinápticas, na liberação ou ativação de enzimas intra e extracelulares, é necessário na transmissão nervosa e regulação da função cardíaca, atua como co-fator necessário nas reações enzimáticas, incluindo a formação de trombina, polimerização do fibrinogênio em fibrina e coagulação (COMINETTI; COZZOLINO, 2020).

A ingestão de cálcio é geralmente associada à ingestão de produtos lácteos por estar mais prontamente disponíveis, como leite, iogurte e queijo. Mas também existem outras fontes como cereais fortificados ou não, nozes e sementes, couve, brócolis e agrião (CORMICK; BETRÁN, 2019). No entanto, o impacto desses alimentos na ingestão total de cálcio depende dos padrões de consumo alimentar da população e da biodisponibilidade do cálcio pela interferência negativa da presença de oxalato na dieta e utilização de certas medicações (CORMICK et al., 2018; VITOLO, 2014).



Como o corpo humano não é capaz de sintetizar minerais, o cálcio deve ser incluído na dieta em todas as fases da vida em níveis adequados (CORMICK et al., 2018). Nesse sentido, o Instituto de medicina (IOM), estabeleceu as DRI mais recentes para o cálcio em 2011, em que os valores de referência para indivíduos adultos é de 1000 mg por dia (CORMICK et al., 2018) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Recomendações de ingestão do cálcio.

Estágios da vida	RDA (mg/d) Recomendações de doses ou cota alimentar	EAR (mg/d) (Estimativa média de requerimento)	UL (Limite de ingestão máxima tolerável)
<b>Bebês</b>			
0 – 6 meses	200*	1000	4 mg
7 – 12 meses	260*	ND*	5 mg
<b>Crianças</b>			
1 – 3 anos	700	500	1500
4 – 8 anos	1000	800	2500
<b>Homens</b>			
9 – 13 anos	1300	1100	3000
14 – 18 anos	1300	1100	3000
19 – 30 anos	1000	800	2500
31 – 50 anos	1000	800	2500
51 – 70 anos	1000	800	2000
> 70 anos	1200	1000	2000
<b>Mulheres</b>			
9 – 13 anos	1300	1100	3000
14 – 18 anos	1300	1100	3000
19 – 30 anos	1000	800	2500
31 – 50 anos	1000	800	2500
51 – 70 anos	1200	1000	2000
> 70 anos	1200	1000	2000
<b>Gestantes</b>			
< 18 anos	1300	1000	3000
19 – 30 anos	1000	800	2500
31 – 50 anos	1000	800	2500
<b>Lactantes</b>			
< 18 anos	1300	1000	3000
19 – 30 anos	1000	800	2500
31 – 50 anos	1000	800	2500

\*ND = Não foi possível estabelecer um valor

\*=AIs

NOTA: Um nível de ingestão superior tolerável (UL) é o nível mais alto de ingestão diária de nutrientes que provavelmente não representa risco de efeitos adversos à saúde de quase todos os indivíduos da população em geral.

Fonte: Adaptada de Ingestão de Referência Dietética para Cálcio (2011).

O cálcio é absorvido por todas as partes do intestino delgado, porém a absorção mais rápida ocorre no duodeno em meio ácido e em meio alcalino a absorção é mais lenta no restante do intestino delgado, onde a quantidade absorvida

é também maior. O cálcio é absorvido por dois mecanismos (WAITZBERG, 2017). O primeiro é controlado pela vitamina D e ocorre por transporte ativo em baixas concentrações intraluminais de cálcio que é saturável, ocorre no duodeno e no jejuno. Já o segundo é por transporte passivo quando em altas concentrações (MAHAN; RAYMOND, 2018).

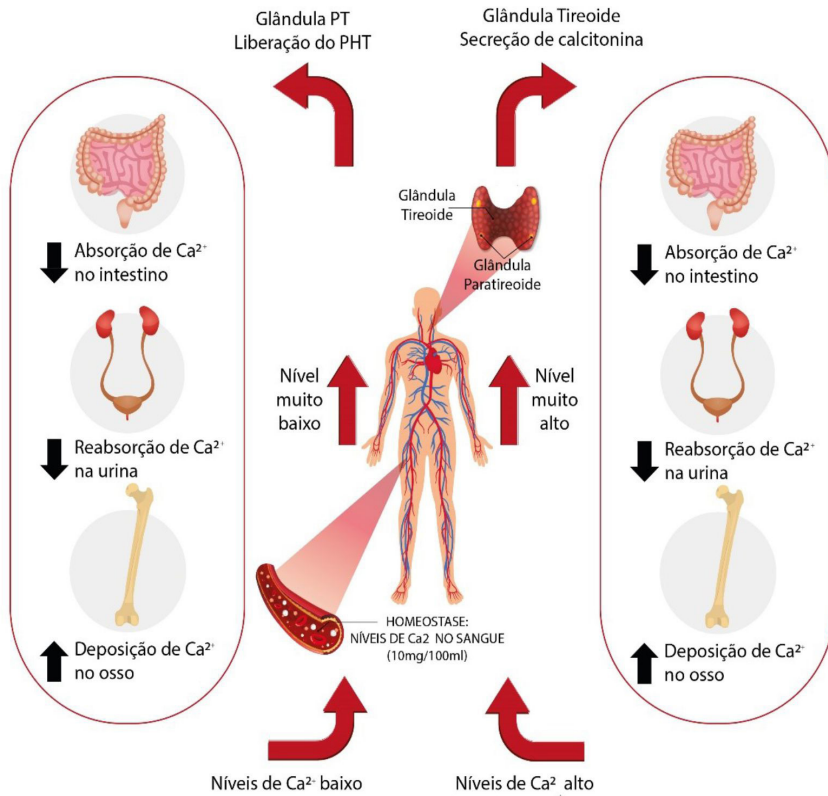
No organismo o cálcio ósseo está em equilíbrio com o cálcio sérico com valores de cálcio sérico situados entre 8,8 e 10,8 mg/dL, na qual as concentrações do cálcio ionizado variam de 4,4 a 5,2 mg/dL (COMINETTI; COZZOLINO, 2020).

O controle da concentração sérica de cálcio é feito pela glândula paratireoide (paratormônio), da tireoide (calcitonina) e pela vitamina D (WAITZBERG, 2017). Quando os níveis de cálcio sérico caem, ocorre estímulo através do receptor sensível ao cálcio para aumentar a secreção do hormônio da paratireoide na glândula paratireoide e diminuir a secreção de calcitonina na glândula tireoide. Assim, altas concentrações de hormônio da paratireoide estimulam a remoção esquelética de cálcio, reabsorvendo o cálcio renal pelo aumento da produção de 1,25-dihidroxitamina D3 e aumento da absorção gastrointestinal de cálcio, que ocorrem até a normalização dos níveis circulantes de cálcio (CAMPOS-VERDES et al., 2018).

Por outro lado, em resposta aos altos níveis de cálcio, o receptor sensível ao cálcio sinaliza a paratireoide para diminuição do hormônio da paratireoide e a aumento da calcitonina na tireoide, isso inibe a absorção óssea e aumenta a excreção renal de cálcio (CAMPOS-VERDES et al., 2018) (Figura 1).

A excreção do cálcio ocorre por via urinária (150-250 mg/dia), pelas fezes (100-150 mg/dia) e, pela bile, suco pancreático e saliva (menos de 1%) (WAITZBERG, 2017).

A deficiência de cálcio, hipocalcemia, é definida quando os valores de cálcio sérico total são inferiores a 8,6 mg/dL (COMINETTI; COZZOLINO, 2020). Nessas condições, pode acontecer sinais clínicos como hipotensão com alterações cardiovasculares, alterações neuromusculares, parestesia de extremidades, diarreia, perda de peso, edema papilar. Já a ingestão muito alta (>2000 mg/dia), especialmente em pessoas com alta ingestão de vitamina D, é uma causa potencial de hipercalemia quando em níveis superiores a 10,2mg/dL. Assim, a toxicidade pode levar a calcificação de tecidos moles, especialmente os rins apresentando como sintomas fadiga, náuseas e vômitos, anorexia, arritmias cardíacas, coma e morte (WAITZBERG, 2017).



**Figura 1.** Regulação da homeostase do cálcio no corpo humano.

Fonte: Elaboração dos autores.

Embora as pesquisas sobre o papel do cálcio tenha sido direcionada principalmente na saúde óssea, os efeitos do cálcio na dieta ou dos suplementos de cálcio têm sido orientados para outros resultados de saúde recentemente como risco de hipertensão gestacional, câncer colorretal, síndrome pré-menstrual, doenças cardiovasculares e câncer de mama (ABBAS et al., 2012). Além disso, estudos mostraram que o aumento do risco de câncer de mama tem sido associado a várias doenças crônicas, como diabetes, obesidade e síndrome metabólica. Portanto, a ingestão de cálcio pode estar indiretamente associada com esses distúrbios em relação a um menor risco de câncer de mama (ABBAS et al., 2012; QIN et al., 2020).

### 3.3 CÁLCIO E CANCER DE MAMA

Nos últimos anos os pesquisadores buscam a regulação em nível celular da proliferação, migração, invasão e morte celular pelo cálcio, e a alteração da

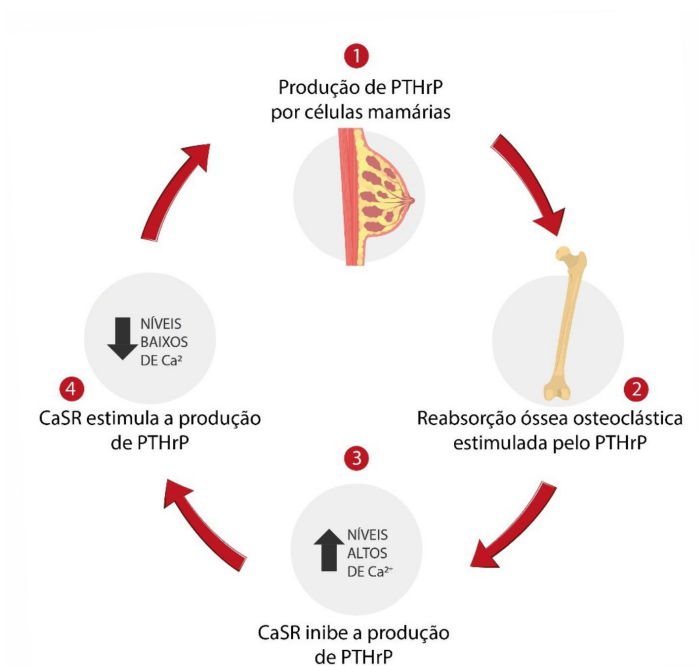
expressão dos componentes particulares de sinalização de cálcio tem sido foco na avaliação da interseção entre sinalização de cálcio e diferentes tipos de câncer (SOHYUN et al., 2016).

Nesta perspectiva, um dos tipos de câncer que tem sido estudado é o câncer de mama. É notório que a mama está intimamente ligada ao íon cálcio durante a lactação, pois o cálcio no leite é importante para o crescimento e desenvolvimento da criança (SOA et al., 2019). No entanto, apenas no ano de 2004 um estudo indicou pela primeira vez que a bomba de efluxo de cálcio da membrana plasmática *Pmca2*, localizada na membrana apical, foi responsável pelo transporte direto de  $\text{Ca}^{2+}$  no leite a partir da célula epitelial. A partir daí, foram identificados outros canais de cálcio em pesquisas com animais e descobertos três análogos humanos das proteínas (*PMCA2*, *ORAI1* e *SPCA2*) que estão ligados ao câncer de mama de alguma forma (SOA et al., 2019).

A expressão alterada não se limita apenas a canais e bombas de cálcio importantes na lactação, pois nas últimas décadas, estudos mostraram que existe um feedback durante a lactação (CAMPOS-VERDES et al., 2018). No início da lactação, uma proteína relacionada ao hormônio da paratireóide (PTHrP) é produzida por células epiteliais da mama e secretada na circulação materna, atuando nas células ósseas para a reabsorção óssea osteoclástica, liberando cálcio na corrente sanguínea. Em seguida, o cálcio circulante atua no receptor sensível ao cálcio (CaSR) para inibir a produção de PTHrP e estimular o transporte de cálcio no leite. Quando o suprimento de cálcio para a glândula é menor que o uso de cálcio, níveis mais baixos de cálcio sistêmico reduzem a estimulação da CaSR, levando à diminuição do transporte de cálcio e diminuindo a secreção de PTHrP pelas células epiteliais da mama (KIM; WYSOLMERSKI, 2016) (Figura 2).

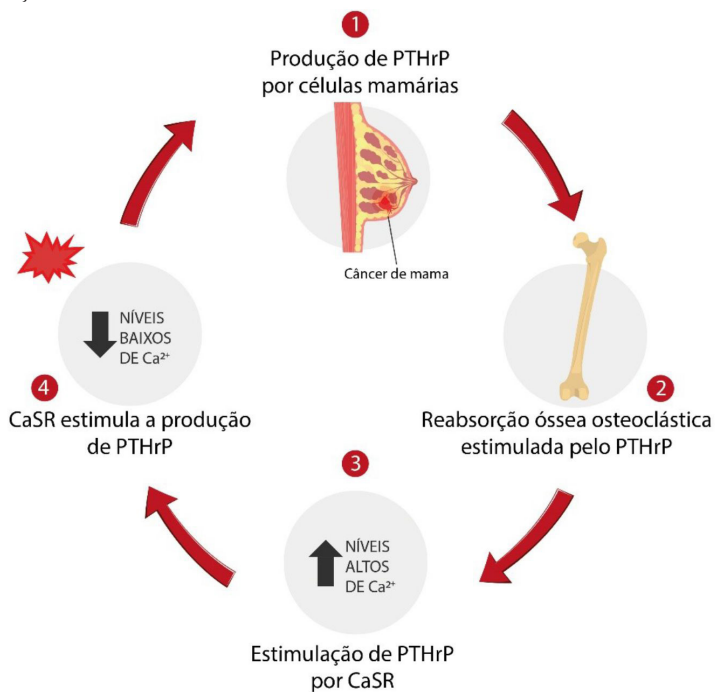
No câncer de mama, alguns estudos relataram que parece haver uma mudança no comportamento da CaSR, pois o CaSR aumenta a proliferação de células cancerígenas. Na neoplasia mamária a ativação do CaSR aumenta a produção de PTHrP estimulando a proliferação de células de câncer de mama e protegendo contra a apoptose. No entanto, não se sabe qual o mecanismo de ativação do receptor sensível ao cálcio uma vez que esse feedback acontece sem a mulher ser lactante (KIM; WYSOLMERSKI, 2016) (Figura 3).

Por outro lado estudos epidemiológicos conduzidos principalmente entre populações ocidentais apoiam uma associação inversa entre a ingestão de cálcio e o risco de câncer de mama, ou seja, o cálcio desempenha um papel protetor na carcinogênese da mama devido à sua importância na regulação da proliferação, diferenciação e apoptose celular (CUI; ROHAN, 2006; SOHYUN, 2016).



**Figura 2.** Feedback do cálcio durante a lactação.

Fonte: Elaboração dos autores.



**Figura 3.** Feedback do cálcio no câncer de mama.

Fonte: Elaboração dos autores.

Nas populações ocidentais, é sabido que os laticínios são a principal fonte alimentar de cálcio, e existe o prevalente uso de suplementos de cálcio, sendo maior que na Ásia (LI et al., 2013). Outrossim, no ocidente os produtos lácteos são geralmente fortificados com vitamina D, o que fica difícil estabelecer se as associações inversas observadas entre o cálcio e o câncer de mama nessas populações são independentes da ingestão de vitamina D (CORMICK et al., 2019).

Em uma meta-análise que utilizou resultados de seis estudos prospectivos de coorte e nove estudos de caso-controle sobre ingestão de cálcio e risco de câncer de mama, obtiveram como resultado uma redução estatisticamente significativa de 19% no risco de câncer de mama quando compararam o grupo com ingestão maior (> 1.000 mg/dia) versus a menor ingestão (<500-600 mg/dia) de cálcio (CHEN et al., 2010).

Já em outra meta-análise mostrou que a associação inversa da ingestão de cálcio com o risco de câncer de mama é limitada a mulheres na pré-menopausa (HIDAYAT et al., 2016). No entanto, ainda precisa mais estudos que venham apoiar tais afirmações, pois o cálcio tem complexas interações entre a vitamina D e fatores de crescimento semelhantes à insulina que podem promover a inibição do crescimento em células de câncer de mama (LIN et al., 2007) Além disso, o cálcio pode servir como um potencial regulador na proliferação celular impulsionada por estrogênio (LIU; HU; CHAKRABARTY, 2009). Ademais, deve-se considerar que existe uma inadequação de cálcio nas mulheres na pós-menopausa visto que é possível que os efeitos benéficos do cálcio nas mulheres na pós-menopausa só ocorram em doses mais altas (MENG et al., 2010).

No entanto, existem preocupações da ingestão de uma dose alta de cálcio com os riscos adversos para a saúde. Assim, a ingestão máxima de cálcio na dieta e/ou por suplemento alimentar deve ser considerada com cautela uma vez que vários estudos também sugeriram que uma alta ingestão de cálcio, principalmente de suplementos, pode estar associada a riscos aumentados de doenças cardiovasculares e pedras nos rins. Um estudo que analisou a dose-resposta mostrou que a associação inversa da ingestão de cálcio com o risco de câncer de mama permaneceu quando a ingestão foi de até 1900 mg/d, o que mostrou uma relação inversa mais adequada quando a ingestão de cálcio é feita em origem alimentar trazendo o benéfico que o cálcio teria como papel de protetor do câncer de mama (HIDAYAT et al., 2016).

Assim, o cálcio é um micronutriente essencial na saúde humana não somente na formação da massa óssea e dentária, mas também por ter um papel de regulação na célula para a proliferação, migração, invasão e morte celular, conferindo assim um importante aliado para o risco ao câncer de mama.

### 3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ante o exposto, sugere-se que o cálcio possa ter um papel protetor no câncer de mama, através da ingestão diária adequada em todas as fases de vida, por ter funções importantes no processo de regulação celular. Por outro lado, uma vez instalado o câncer de mama, o cálcio parece ativar e modificar a via utilizada na lactação, aumentando a proliferação de células cancerígenas e protegendo contra a apoptose. No entanto, fazem-se necessários mais estudos que possam consolidar tais informações.

### REFERÊNCIAS

ABBAS, S. et al. Dietary Intake of Vitamin D and Calcium and Breast Cancer Risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **Nutrition and Cancer**, v 65, n 2, p 178–187, 2012.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Ca Cancer J Clin**. v 68, p 394–424, 2018.

CAMPOS-VERDES, L. M. et al. Review of Polymorphism of the Calcium-Sensing Receptor Gene and Breast Cancer Risk. **Cancer Investigation**, p. 1-7, 2018.

CHEN, P. et al. Meta-análise de vitamina D, cálcio e prevenção de câncer de mama. **Res. Tratar**. v 121, p 469–477, 2010.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Manole, p 1416, 2020.

CORMICK, G; BETRÁN, A.P. Calcium Intake and Health. **Nutrients**, v 11, p 1606, 2019.

CORMICK, G. et al. Global inequities in dietary calcium intake during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. **An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v 26, p 444–456, 2018.

COUGHLIN, S. S; CYPEL, Y. Epidemiology of Breast Cancer in Women. **Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance**, v. 9781461456476 n 16, p. 19-34, 2013.

CUI, Y; ROHAN, T. E. Vitamin D, calcium, and breast cancer risk: a review. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v 15, p 1427-1437, 2006.

HARBECK, N; GNANT, M. Breast câncer. **Lancet**, v 389, p 1134–50, 2017.

HIDAYAT, K. et al. Calcium intake and breast cancer risk: meta-analysis of prospective cohort studies. **British Journal of Nutrition**, v 116, p 158–16, 2016.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Ministério da saúde. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2015.

IOM. **Dietary Reference Intakes for calcium and vitamin D**. Washington (DC): The National Academy Press; 2011.

KIM, W; WYSOLMERSKI, J. J. Calcium-sensing receptor in breast physiology and cancer. **Front Physiol**, v 7, p 440, 2016.

LI, J. et al. Calcium intake is not related to breast cancer risk among Singapore Chinese women. **International Journal of Cancer**, v 133, p 680–687, 2013.

LIN, J. et al. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. **Arch Intern Med**, v 167, p 1050–1059, 2007.

LIU , G; HU , X. E; CHAKRABARTY , S. Calcium sensing receptor down-regulates malignant cell behavior and promotes chemosensitivity in human breast cancer cells. **Cell Calcium**, v 45, p 216-225, 2009.

MAHAN, L. K; RAYMOND, J. L. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 14ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p 1228, 2018.

MENG , X. et al. Calcium Intake in Elderly Australian Women Is Inadequate. **Nutrients**, v. 2, p. 1036-1043, 2010.

MICALIZZI, S. D; MAHESWARAN, S. On the trail of invasive cells in breast cancer. **Nature**, v.554, n. 7692, p. 1-2, 2018.

QIN, B et al. Intake of vitamin D and calcium, sun exposure, and risk of breast cancer subtypes among black women. **Am J Clin Nutr**. v 111, p 396-405, 2020.

SOA, C. L. et al. Calcium signalling and breast câncer. **Semin Cell Dev Biol**, v 94, p 74-83, 2019.

SOHYUN, J. et al. Genetic polymorphisms of CASR and cancer risk: evidence from meta-analysis and HuGE review. **Onco Targets Ther**, v 9, p. 655-690, 2016.

VITOLO, M.R. **Nutrição: da gestação ao envelhecimento**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Rubio, p 576 2014.

WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 5ª. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p 3296, 2017.



# Capítulo 4

## Selênio e o Câncer de Mama

*Máisa Guimarães Silva Primo  
Nadir do Nascimento Nogueira  
Poliana Cristina de Almeida Fonseca Viola  
Gilmara Péres Rodrigues*

### 4.1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um oligoelemento essencial para diversas funções no organismo humano. Descoberto em 1817 pelo químico sueco J. Jakob Berzelius, esse mineral foi, por muitos anos, considerado um elemento que exercia funções prejudiciais à saúde. Apenas em 1979, a importância do Se para a nutrição humana começou a ser compreendida, devido à descoberta do seu papel no desenvolvimento da Doença de Keshan, cardiomiopatia diagnosticada em crianças que residiam em regiões de solo pobre no mineral (BROWN; ARTHUR, 2001; KESHAN DISEASE RESEARCH GROUP, 1979).

Entre as principais funções biológicas do Se, podem ser mencionadas o aumento da resistência imunológica, sua participação no metabolismo dos hormônios tireoidianos, na manutenção da fertilidade masculina, na proteção contra a ação nociva de metais pesados e xenobióticos, bem como seu importante papel antioxidante, por meio da formação de selenoproteínas, a exemplo da selenoproteína P e da glutatona peroxidase (GPx) (FREITAS et al., 2014).

Devido à sua relevância para a saúde humana, o estado nutricional relativo ao Se deve ser avaliado periodicamente, determinando-se, para tanto, suas concentrações no soro, plasma, eritrócito, urina, cabelos e unhas (SOARES, 2018). A fim de que valores adequados sejam encontrados, recomenda-se que mulheres maiores de 18 anos consumam diariamente 55 µg do mineral (RDA), considerando como limite máximo tolerável de ingestão (UL) o equivalente a 400 µg de Se por dia (IOM, 2006).

A quantidade de Se no organismo dependerá da ingestão de alimentos fontes do mineral ou da suplementação química. A composição nutricional em Se dos alimentos fontes está diretamente relacionada ao teor do mineral no solo de cultivo, bem como aos fatores geoquímicos, características da rocha e pH

do solo (GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2007; TRUEBA; SANCHEZ; GUILIANI, 2004).

O consumo insuficiente de Se poderá favorecer o desenvolvimento de doenças específicas, como a cardiomiopatia de Keshan; mas também, o de doenças crônicas não transmissíveis, com destaque para o câncer de mama, uma vez que vias metabólicas dependentes de Se serão inibidas, viabilizando a ocorrência de processos mutagênicos e carcinogênicos em células saudáveis (SOARES, 2018).

#### 4.2 ESTRUTURA QUÍMICA DO SELÊNIO NO SOLO E ALIMENTOS

O Se é encontrado na natureza em quatro estados de oxidação (0, +2, +4, +6) e nas formas orgânicas e inorgânicas. Obtido a partir da água, ar e solo, sua quantidade varia de acordo com fatores geoquímicos, como o pH e a natureza da rocha (FORDYCE, 2007; GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2012). A quantidade desse mineral no solo tem origem do magma e dos gases vulcânicos, sendo posteriormente proveniente do degelo, com distribuição heterogênea e variação da concentração de Se no solo entre 0,01 e 2 mg/kg até concentrações mais elevadas, próximas a 1.200 mg/kg (FARIA; KARP, 2015; KOHRLE, 1999).

Em cada tipo de solo predomina uma forma química diferente de Se. Em solos ácidos, ricos em matéria orgânica, predomina o Seleneto. Nos solos neutros, encontram-se os Selenitos ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), complexados com óxidos e hidróxidos de ferro, o que os torna pouco disponíveis para as plantas. Em solos alcalinos predominam os Selenatos ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ), sendo esta a forma química prevalente e mais absorvida pelas plantas. No Brasil, as maiores concentrações de Se no solo são encontradas nas regiões Norte e Nordeste (FARIA; KARP, 2015).

Além das características físico-químicas do solo de cultivo, sabe-se que as condições de manejo, irrigação, bem como as alterações climáticas, influenciam a concentração e biodisponibilidade do Se em alimentos de origem animal e vegetal. O que influenciará, conseqüentemente, as concentrações sanguíneas de Se nas diferentes populações (GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2016; OLDFIELD, 2002).

Nos alimentos de origem animal e vegetal, o Se é encontrado na forma orgânica, como Selenometionina (SeMet). Na forma inorgânica, é encontrado como Selenocisteína (SeCys), predominantemente nos alimentos de origem animal, sendo considerada a forma química mais biologicamente ativa. Formas inorgânicas, como o Selenato e Selenito de Sódio são utilizadas na produção de suplementos nutricionais e fortificação de alimentos (COMINETTI et al., 2011; FINLEY, 2006; RAYMAN, 2000).

No organismo humano, entretanto, todos os selenocompostos serão convertidos em Selenito para serem metabolizados. Assim, a biodisponibilidade

de Se dependerá, não apenas dos processos digestivos e absorptivos, mas também da quantidade do mineral que será convertido para a formação das selenoproteínas, da forma química ingerida, sua interação com facilitadores (metionina, proteínas, vitaminas E e A) e/ou inibidores da absorção (metais pesados como chumbo, cádmio e mercúrio), fatores econômicos e hábitos alimentares da população (FAIRWEATHER-TAIT, 1997; FAIRWEATHER-TAIT et al., 2011; NOBREGA, 2015; SOARES, 2018).

No Brasil, estudos de base epidemiológica mostraram que a ingestão dietética de Se varia de 18 a 139  $\mu\text{g}/\text{dia}$ , sendo a castanha do Brasil, também conhecida como castanha do Pará, a fonte alimentar mais rica e popular. Outros alimentos considerados boas fontes alimentares de Se são os cogumelos, frutos do mar, fígado, rins, levedura de cerveja, cereais integrais e vegetais crucíferos, como o brócolis e couve-flor (Figura 1) (REIS, 2018; THOMSON et al., 2008).



**Figura 1.** Principais fontes de Selênio na natureza.

Fonte: Elaboração dos autores

Conforme supramencionado, ressalta-se que as fontes alimentares de Se terão maior ou menor concentração do mineral a depender da região e das características do solo onde foram cultivadas (FINLEY, 2006; GONZAGA; MARTENS; COZZOLINO, 2016).

### 4.3 METABOLISMO DO SELÊNIO

O corpo humano possui cerca de 10 a 20 mg de Se, o equivalente a menos de 0,01% do peso corporal total, sendo armazenado nos músculos, esqueleto, eritrócitos, pâncreas, fígado, rins, estômago, cérebro, mucosa gastrointestinal e pele na forma química de SeMet (GROPPER et al., 2009; SOARES, 2018).

A absorção do Se ocorre principalmente no duodeno, ceco e cólon, em quantidades variáveis, de acordo com a forma química ingerida. A SeMet é a forma química de melhor absorção, alcançando níveis absorptivos equivalente a 95 e 98%, por meio de transporte ativo com aminoácidos básicos, como histidina, lisina, arginina e metionina. Na sequência, a forma química Selenato apresenta ótima capacidade absorptiva, superior a 90%, por meio de carreadores dependentes de sódio e potássio. O Selenito, muito presente na fortificação de alimentos e suplementos alimentares, é absorvido por difusão simples, alcançando níveis de absorção superiores a 80% (COMINETTI et al., 2011; FAIRWEATHER-TAIT, 1997).

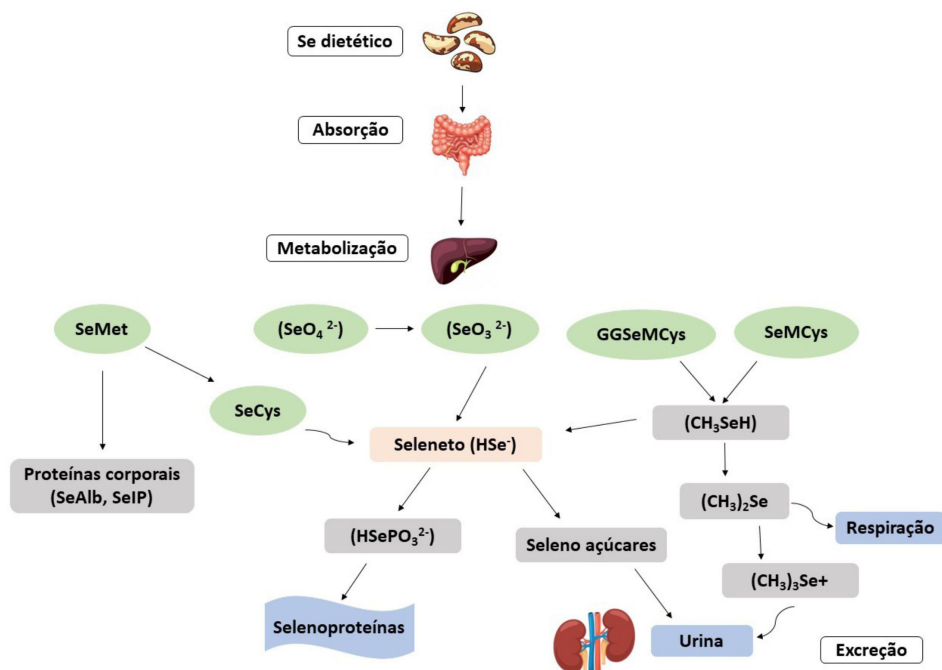
Após absorção, os selenocompostos são metabolizados no fígado. A SeMet é dependente do estado nutricional de metionina para biotransformação em compostos biologicamente ativos. Em condições adequadas, a SeMet pode ser transsulfurada em SeCys, por ação da enzima  $\beta$ -sintase, e convertida em Seleneto ( $\text{HSe}^-$ ) ou incorporada às proteínas do organismo (ROMAN et al., 2014).

Uma vez absorvida, a forma química Selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) é reduzida em Selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) e em  $\text{HSe}^-$ . As formas químicas  $\gamma$ -glutamil-Se-metilselenocisteína (GGSeMCys) e Se-metilselenocisteína (SeMCys) são convertidos a Metilselenol ( $\text{CH}_3\text{SeH}$ ) pela  $\beta$ -liase e desmetilados, formando  $\text{HSe}^-$ . Portanto, no metabolismo do Se, todas as reações mencionadas formam um único produto, denominado Seleneto ( $\text{HSe}^-$ ), que é utilizado como substrato para a biossíntese de selenoproteínas (GIERUS, 2007; NOBREGA, 2015).

Após metabolização, o Se é excretado principalmente por via urinária, a fim de manter a homeostase entre os selenocompostos e o Se corporal. Para excreção urinária, grupamentos metil são acrescentados às formas químicas circulantes, obtendo formas químicas menos tóxicas, a exemplo do Trimetilselenônio, Metilselenol e Selenoaçúcares (COMINETTI et al., 2011).

É importante mencionar que a excreção também pode ocorrer por meio da matéria fecal, por secreções biológicas e pelas unhas. Além disso, em condições de excesso de Se corporal, o mineral passa a ser eliminado também pela respiração, nas formas químicas de Monometil e Dimetilselenito (LETAVAYOVÁ; VLCKOVÁ; BROZMANOVÁ, 2006).

Na figura 2 são apresentadas algumas vias e formas químicas presentes no metabolismo e excreção urinária do Se.



**Figura 2.** Reações bioquímicas que compõem o metabolismo do Selênio, a partir das diferentes formas químicas ingeridas.

Legenda: SeMet: Selenometionina; SeCys: Selenocisteína; Selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ); Selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ); Seleneto: ( $\text{HSe}^-$ ); Selenofosfato:  $\text{HSePO}_3^{2-}$ ;  $\gamma$ -glutamil-Se-metilselenocisteína (GGSeMCys); Selenocisteína (SeMCys); Metilselenol ( $\text{CH}_3\text{SeH}$ ); Dimetilselenito ( $\text{CH}_3)_2\text{Se}$ ; Trimetilselenito ( $\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$ .

Fonte: Elaboração dos autores.

#### 4.4 RECOMENDAÇÕES DIETÉTICAS E ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO SELÊNIO

Para a determinação das recomendações nutricionais diárias de Se, o *National Research Council* (NRC, 1989) estabeleceu que a concentração sanguínea de Selenoproteínas, a exemplo da GPx (Glutathione Peroxidase), seria utilizada como parâmetro para determinar a saturação do mineral. Com base nessa determinação, estudos populacionais realizados na China e Nova Zelândia subsidiaram o estabelecimento dos valores de Ingestão Dietética Recomendada (RDA) e de Necessidade Média Estimada (EAR) de Se para homens e mulheres de diferentes idades (IOM, 2006).

Assim, para adultos, o *Institute of Medicine* (IOM, 2006) recomenda uma ingestão diária (RDA) de 55  $\mu\text{g}$  de Se, com necessidade média estimada diária de 45  $\mu\text{g}$  de Se (EAR). Os valores de RDA e EAR são utilizados, respectivamente,

para avaliação da ingestão individual e de grupos populacionais. Em adição, considera-se como Limite Máximo Tolerável de Ingestão (UL) o equivalente a 400 µg de Se/dia, utilizando-se esse valor de ingestão como indicativo de excesso relativo ao mineral, capaz de gerar toxicidade por meio da alimentação e/ou suplementação (IOM, 2006).

No que se refere à avaliação do estado nutricional relativo ao Se, na prática clínica podem ser utilizados métodos diretos, como exame de sinais clínicos, imunológicos e bioquímicos. Os parâmetros bioquímicos mais utilizados incluem as dosagens do mineral no plasma, eritrócitos, cabelos e unhas, bem como a análise das Glutationas Peroxidases. No Brasil, as avaliações do estado nutricional relativo ao Se mostraram baixas concentrações plasmáticas e eritrocitárias do mineral nas populações estudadas (DONADIO et al., 2016; ROCHA et al., 2016).

As dosagens de Se no plasma e soro refletem a ingestão alimentar a curto prazo. O Se disponível no plasma e soro estão no formato de Selenoproteínas P, GPx-3, Selenometionina e outros compostos de estrutura dependente do mineral. Nos eritrócitos, a dosagem de Se expressa a ingestão dietética de médio prazo e está presente predominantemente no formato de GPx-1 (NOBREGA, 2015). Nos cabelos e unhas, as dosagens de Se indicam estado nutricional de longo prazo, equivalente a um período de 6 a 12 meses. Entretanto, são pouco utilizadas em estudos científicos pela susceptibilidade biológica e contaminação por diversos produtos químicos, como xampus e esmaltes (NAVARRO-ALARCON; CALEBRA-VIQUE, 2008).

Como biomarcador da excreção, a dosagem urinária de Se é a mais utilizada, pois cerca de 15 a 20% do mineral absorvido é eliminado por esta via. A interpretação do resultado deve ser realizada com cautela, considerando as variações na excreção urinária de Se por homens e mulheres de diferentes idades (XIA et al., 2005).

É também oportuno mencionar que, uma vez que a deficiência de Se reduz a atividade de enzimas dependentes do mineral, pode-se utilizar a dosagem de selenoproteína P, GPx-1 (eritrócito) e/ou GPx-3 (plasma), como biomarcadores do estado nutricional relativo ao Se. Apesar do crescente uso desses biomarcadores em pesquisa científica, ainda não existe um consenso mundial quanto aos valores de referência a serem adotados (COMINETTI; COZZOLINO, 2009; THOMSON, 2004).

#### 4.5 CARCINOGENESE MAMÁRIA E SELÊNIO

A patogênese do câncer de mama e a terapia antineoplásica induzem de forma intrínseca a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's). Os mecanismos envolvidos ainda não estão totalmente esclarecidos. Uma das

hipóteses sugere que o aumento das necessidades metabólicas das células neoplásicas e, portanto, de ATP (adenosina trifosfato) para manter a elevada taxa de proliferação, resulte na síntese aumentada de radicais livres intracelulares (KANAAN; HAPER, 2017).

A capacidade celular de adaptação à presença de ERO's depende do nível de exposição ao estresse oxidativo (EO). Desta forma, quando as membranas celulares estão continuamente expostas a um ambiente circundante de EO, as ERO's conseguem danificar a barreira lipoproteica e entrar na célula, chegando ao núcleo, para promover danos irreversíveis ao material genético. No núcleo celular, as reações oxidativas geram mais ERO's, a exemplo dos peróxidos lipídicos e peroxinitritos, que contribuem para iniciar o processo carcinogênico, formando adutos genotóxicos no DNA (ácido desoxirribonucleico) e a iniciação tumoral (FENG et al., 2012; HECHT et al., 2016).

Especificamente em relação ao câncer de mama, dois mecanismos carcinogênicos merecem destaque: (1) a célula iniciada é estimulada a aumentar a síntese do DNA para replicação, na presença de agentes carcinogênicos, como as ERO's, e (2) o EO favorece a proliferação tumoral por meio da interação de ERO's com citocinas e hormônios, como o estrogênio, resultando na ativação de proteínas tirosina quinase para inibição da apoptose celular e aumento da expressão de oncogenes (VERA-RAMIREZ et al., 2011).

Nesse sentido, diversos estudos têm evidenciado que o Se é micronutriente essencial ao sistema de defesa antioxidante celular, no combate à síntese aumentada de ERO's e consequente proteção contra a tumorigênese mamária (JÚNIOR et al., 2015; SILVA et al., 2017). O papel antioxidante do Se se deve à composição estrutural deste mineral na formação da enzima GPx, importante na segunda linha de defesa antioxidante do organismo, após a atividade da enzima Superóxido Dismutase, que é zinco/cobre dependente. Essas duas enzimas antioxidantes combatem o EO, que está relacionado ao câncer de mama, tanto pela fisiopatologia da doença, quanto em decorrência da terapia antineoplásica (GROBER et al., 2016).

Além disso, o Se exerce papel anticarcinogênico em outros mecanismos celulares e moleculares, por meio de diversas Selenoproteínas que integram o metabolismo da glicose, bem como a síntese e o reparo do DNA. Entre esses mecanismos, destacam-se: (1) o efeito inibitório dos derivados de Se sobre a proteína quinase C, regulando a diferenciação celular e o crescimento do tumor; (2) aumento da expressão do gene p53 (supressor de tumor); (3) inibição da angiogênese; (4) estímulo de células natural *killer* e linfócitos citotóxicos e (5) participação em mecanismos epigenéticos, como na redução da hipermetilação inibitória da transcrição do DNA (FONTELLES; ONG, 2017; GUO et al., 2015; HECHT et al., 2016).

Contra a tumorigênese, o papel do Se parece estar relacionado aos estágios iniciais, impedindo que adutos genotóxicos sejam formados no DNA, ou ainda que haja ruptura ou perda de cromossomos no material genético das células. Em adição, o Se pode favorecer a atividade de enzimas que participam do sistema Citocromo p450 e da desintoxicação de fase II, bem como a atividade de enzimas reparadoras de DNA, a exemplo das glicosilases (FERGUSON et al., 2012).

Em fases mais tardias da carcinogênese, o Se pode inibir o crescimento celular, por meio de indução apoptótica. Essa atividade foi demonstrada em estudo *in vitro* realizado com linhagem celular LNCaP, modelo de câncer de próstata, tratadas com baixas concentrações de Se nas formas químicas de Selenito de Sódio e Selenometionina. Os resultados mostraram diminuição de danos oxidativos ao DNA na presença de concentrações intracelulares aumentadas do mineral (ERKEKOGLU et al., 2010).

A atividade anticarcinogênica do Se também foi demonstrada *in vivo* por estudo desenvolvido em ratos tratados com DMBA (7,12-dimetilbenzantraceno, um antineoplásico indutor de EO) e alimentados com Selenito de Sódio. Os resultados mostraram que a alimentação rica em Se diminuiu a ocorrência de peroxidação lipídica e a formação de óxido nítrico. Em humanos com câncer de mama, também se verificou redução do EO, avaliado pela concentração de biomarcadores resultantes de reações oxidativas, bem como pelas concentrações aumentadas de enzimas de reparo (TAKADA et al., 1992; EL-BAYOUMY, 2001; DIZIAMAN et al., 2009).

Em suma, evidências científicas têm mostrado que a ingestão adequada de Se pode alterar os mecanismos biológicos de vários tipos de câncer. A partir dos resultados de estudos experimentais, acredita-se que a quimioprevenção induzida pelo Se é alcançada mediante ingestão dietética de concentrações supranutricionais do mineral, a depender do tipo de metabólito e sua bioconversão à forma ativa. A Se-metilselenocisteína, por meio do Metilselenol, foi verificada como um dos selenocompostos efetivos contra o câncer, por ser capaz de inibir a angiogênese, importante meio de nutrição e oxigenação das células tumorais (LU; JIANG, 2005; CHEN et al., 2013; LU et al., 2016).

#### **4.6 PARTICIPAÇÃO DO SELÊNIO NA PROGRESSÃO DO CÂNCER DE MAMA**

Ainda em relação à angiogênese tumoral, o Se é capaz de regular negativamente o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), reduzindo a irrigação sanguínea para as células tumorais e, conseqüentemente, reduzindo sua capacidade invasiva e metastática (SACCANI et al., 2006; VUNTA et al., 2007).



Entre as vias metabólicas importantes para a progressão tumoral, destaca-se a do ácido araquidônico mediada pela COX-2 (ciclooxigenase 2). Por esta via, ocorre síntese estimulada de prostaglandina lipídica E2 (PGE2), com indução do microambiente inflamatório e de supressão imunológica, que conferem maior agressividade tumoral. O Se, por meio da ação de selenoproteínas, é capaz de desacoplar a COX-2 da mPEGS-1 (enzima PGE2 sintase microsossomal 1), reprogramando o metabolismo do ácido araquidônico e diminuindo a síntese de PGE2 (DIWAKAR et al., 2017; PRIMA et al., 2017).

Em relação à prevenção carcinogênica, estudo de metanálise desenvolvido por Babaknejad et al. (2014), incluindo estudos que investigaram o risco de câncer de mama em relação aos níveis séricos de Se, mostrou associação inversa entre as concentrações de Se e o risco de desenvolver a doença, sugerindo a deficiência do mineral como preditor da neoplasia mamária. Em adição, estudo de metanálise e meta-regressão desenhada por Cai et al. (2016), verificou que a elevada exposição ao Se tem efeito protetor contra o câncer, mas que o efeito quimiopreventivo do mineral depende do tipo de câncer avaliado, sugerindo que elevadas concentrações de Se no soro e plasma estão relacionadas ao risco diminuído dos cânceres de mama, pulmão e esôfago.

Referente à progressão do câncer de mama, a suplementação com diferentes formas químicas de Se em ratos, associou o Selenito à diminuição do crescimento tumoral a curto prazo, bem como ao aumento da incidência de metástases em rins e ossos. Os resultados foram melhores quanto à forma química Selenometionina, associada à inibição mais prolongada do crescimento tumoral e associada a menor ocorrência de metástase (CHEN et al., 2013).

Além disso, o papel do Se no câncer também tem sido apontado como potencializador terapêutico, minimizando os efeitos adversos das drogas quimioterápicas (MAYO, 2017). O potencial terapêutico foi corroborado por Chen et al. (2018), em estudo com aplicação de nanopartículas de Se em linhagem celular do câncer de mama (MCF-7) combinada à terapia antineoplásica convencional. Os resultados mostraram indução de apoptose celular, autofagia e interrupção na fase G2 do ciclo celular, sugerindo que o uso combinado de Se em pacientes durante o tratamento oncológico pode potencializar os resultados desejados.

Ressalta-se, porém, que muitos estudos ainda são necessários para avanço do conhecimento sobre a eficácia do Se na prevenção ou terapia do câncer de mama, uma vez que o papel deste mineral dependerá de vários fatores, incluindo a quantidade, forma química ingerida e biodisponibilidade, bem como aspectos genéticos (polimorfismos e mecanismos epigenéticos), estágios de intervenção e de desenvolvimento tumoral.

## REFERÊNCIAS

- BABAKNEJAD, N. et al. The relationship between selenium levels and breast cancer: a systematic review and a meta-analysis. **Biol Trace Elem Res**, v. 159, n 1-3, p. 1-7, 2014.
- BHATTARAI, G. et al. C-myb mediates inflammatory reaction against oxidative stress in human breast cancer cell line, MCF-7. **Cell Biochem Funct**, v. 29, n. 8, p. 686–693, 2011.
- BROWN, K. M.; ARTHUR, J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutr.**, v. 4, n. 2B, p. 593-599, 2001.
- BUNT, S.K. et al. Reduced inflammation in the tumor microenvironment delays the accumulation of myeloid-derived suppressor cells and limits tumor progression. **Cancer Res**, v. 67, n.20, p.10019–10026, 2007.
- CAI, X. et al. Selenium exposure and cancer risk: na updated meta-analysis and meta-regression. **Sci Rep**, v. 20, n. 6, p. 1-18, 2016.
- COMINETTI, C. et al. Estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 36, n. 3, p. 131-153, 2011.
- CHEN, Y.C. et al. Dietary selenium supplementation modifies breast tumor growth and metastasis. **Int J Cancer**, v. 9, n.133, p.20540-64, 2013.
- CHEN, F. et al. The effects of combined selenium nanoparticles and radiation therapy on breast cancer cells in vitro. **Artif Cells Nanomed Biotechnol**. v. 46, n. 5, p. 937-948, 2018.
- DIWAKAR, B.T. et al. The regulation of pathways of inflammation and resolution in imune cells and cancer stem cells by selenium. **Adv Cancer Res**, v. 136, p. 153-172, 2017.
- DONADIO, J.L.S. **Influence of diferente genotypes in the pattern of selenoprotein expression. In response to Brazil nut supplementation.** 2016. 143p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, 2019.
- DOWNWARD, J. Targeting RAS, signalling pathways in cancer therapy. **Nat Rev Cancer**, v. 3, p. 11–22, 2003.
- EL-BAYOUMY, K. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. **Mutat Res**, v. 475, n.1-2, p. 123-139, 2001.
- ERKEKOĞLU, P. et al. Protective effect of selenium supplementation on the genotoxicity of di (2 ethylhexyl) phthalate and mono (2-ethylhexyl) phthalate treatment in LNCaP cells. **Free Radic Biol Med**, v. 49, n.4, p. 559 – 66, 2010.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Bioavailability of selenium. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 51, p. S20-S23, 1997.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. et al. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal*, v. 14, n. 7, p. 1337-1383, 2011.

FARIA, L.A.; KARP, F.H.S. Selênio: um elemento essencial ao homem e aos animais e benefício às plantas. *Infor Agron*. n. 149, p. 17-22, 2015.

FENG, J. F. et al. Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients. *Int J of Clin Oncol*, v. 17, n. 6, p. 575-583, 2012.

FERGUSON, L. R. et al. Selenium and its' role in the maintenance of genomic stability. *Mutat Res*. v. 733, n. 1-2, p. 100-110, 2012.

FISCHER, J.L. et al. Chemotherapeutic selectivity conferred by selenium: a role in p53-dependent DNA repair. *Mol Cancer Ther*. v. 6, n. 1, p. 355-61, 2007.

FONTELLES, C.C.; ONG, T.P. Selenium and Breast Cancer Risk: Focus on Celular and Molecular Mechanisms. *Adv Cancer Res*. v. 136, p. 173-192, 2017.

FORDYCE, F.M. Selenium geochemistry and health. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*. Stockholm, v. 36, n. 1, p 94-97, 2007.

FRANCESCHINI, D. et al. Prognostic factors in patients with locally advanced head and neck cancer treated with concurrent radiochemotherapy. *Radiol Med*, v. 121, n. 3, p.229-37, 2016.

FREITAS, R.G.B.O.N. et al. Deficiência de selênio e os efeitos da suplementação em prematuros. *Rev Paul Pediatr*., v. 32, n. 1, p 126, 2014.

GONZAGA, I. B.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Selênio. In: COZZOLINO, S. M. F. (org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5. ed. Barueri: Manole, 2016. cap. 26, p. 539-577.

GUO, C.H. et al. Effects of selenium yeast on oxidative stress, growth inhibition, and apoptosis in human breast cancer cells. *Int J Med Sci*. v. 12, n. 9, p. 748-58, 2015.

GROBER, U. et al. Micronutrients in oncological intervention. *Nutrientes*. v. 163, n.8, p. 163, 2016.

GROPPER, S.S.; MITH, J.L.; GROFF J.L. **Microminerals: Selenium**. In: Advanced nutrition and human metabolism. 5 eds. Belmont, USA: Wadsworth, Cengage Learning, 2009.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**. v. 144, n. 5, p. 646–74, 2011.

HARRIS, H.R. BERGKVIST, L.; WOLK, A. Selenium intake and breast cancer mortality in a cohort of Swedish women. **Cancer Res Treat**. v. 3, n.134, p. 1269-77, 2012.

HECHT, F. et al. The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. **Tumor Biol**, v. 37, n.4, p. 4281-91, 2016.

JUNIOR, A.L.G. et al. Serum oxidative stress markers and genotoxic profile induced by chemotherapy in patients with breast cancer: a pilot study. **Oxidat Med Cell Long**. v. 2015, p 1-11, 2015.

KESHAN DISEASE RESEARCH GROUP. Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. **Chin Med J (Engl)**, v. 92, n. 7, p. 471-6, 1979.

LESCURE, A. et al. Selenoprotein function and muscle disease. **Biochim Biophys Acta**. v. 1790, n.11, p.1569-74, 2009.

LETAVAYOVÁ, L.; VLCKOVÁ, V.; BROZMANOVÁ, J. Selenium: from cancer prevention to DNA damage. **Toxicology**, v. 227, n. 1-2, p. 1-14, 2006.

LIPINSKI, B. Sodium selenite as an anticancer agent. **Anticancer Agents Med Chem**. v. 17, n.5, p.658-661, 2016.

LIU, J. et al. Cancer chemoprevention research with selenium in the post-SELECT era: promises and challenges. **Nutr Cancer**, v. 68, p.1-17, 2016.

LIU J.; JIANG, C. Selenium and cancer chemoprevention: hypotheses integrating the actions of selenoproteins and selenium metabolites in epithelial and non-epithelial target cells. **Antioxid Redox Signal**, v. 7, n. 11-12, p. 1715-1727, 2005.

MAIYO, F.; SINGH, M. Selenium nanoparticles: potential in cancer gene and drug delivery. **Nanomedicine**, v. 12, n.9, p. 1075-1089, 2017.

NOBREGA, P.T. **Selênio e a importância para o organismo humano – benefícios e controvérsias**. 2015. 70p. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2015.

OLDFIELD, J. E. **Selenium word atlas (Update edition)**. Selenium – Tellurium Development Association (STDA). 2002.

PAPP, L. V. et al. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. **Antioxid Redox Signal**, v. 9, n. 7, p. 776-806, 2007.

PRIMA, V. et al. COX2/mPGES1/PGE2 pathway regulates PD-L1 expression in tumor-associated macrophages and myeloid-derived suppressor cells. **PNAS**, v. 114, n. 5, p. 1117–1122, 2017.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 233-241, Jul 2000.

RAYMAN, M.P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p.1256-68, 2012.

REDDY, S. M. et al. Clinical and genetic predictors of weight gain in patients diagnosed with breast cancer. **Br J Cancer**, v. 109, n. 4, p. 872-81, 2013.

REIS, B.Z. **Expressão de microRNA circulante em mulheres com excesso de peso suplementadas com castanha-do-brasil**. 2018. 113p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.

ROCHA, A.V. et al. GPx1 Pro198Leu polymorphism and GSTM1 deletion do not affect selenium and Mercury status in mildly exposed Amazonian woman in na urban population. **Sci Total Environ**, v. 571, p. 801-8, 2016.

ROMAN, M.; JITARU, P.; BARBANTE, C. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**, v.6, n. 1, p. 24-54, 2014.

SACCANI, A. et al. P50 nuclear factor-kb overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. **Cancer Res**, v. 66, n. 23, p. 11432-40, 2006.

SOARES, M.S. **Avaliação nutricional relativa ao selênio de indivíduos adultos da cidade de Manaus-Amazonas**. 2018. 79p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada). Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.

TAKADA, H. et al. Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced lipid peroxidation and mammary tumor development in rats by vitamin E in conjunction with selenium. **Nutri Cancer**, v. 17, n. 2, p.115–122, 1982.

THOMSON, C. D. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. **Eur J Clin Nutrition**, v. 58, n. 3, p. 391- 402, 2004.

VERAS-RAMIREZ, L. et al. Free radicals in breast carcinogenesis, breast cancer progression and cancer stem cells. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 80, n. 3, p. 347-368, 2011.

VUNTA, H. et al. The anti-inflammatory effects of selenium are mediated through 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 in macrophages. **J Biol Chem**. v. 282, n. 25, p.7964–17973, 2007.

WEYDERT, C.J. et al. Overexpression of manganese or copper-zinc superoxide dismutase inhibits breast cancer growth. **Free Radic Biol Med**. v. 41, n. 2, p. 226–37, 2006.

# Capítulo 5

## Zinco e o Câncer de Mama

*Luana Mota Martins*

*Carla Solange de Melo Escórcio Dourado*

*Jussilene Alves Amorim*

*Neusa Camilla Cavalcante Andrade Oliveira*

### 5.1 INTRODUÇÃO

Câncer (CA) é uma doença responsável por alterações genéticas a nível celular, provocando um crescimento desordenado de células, as quais podem invadir tecidos, levando a perda de sua função, processo esse que culmina na formação de clones de células neoplásicas, ou seja, tumores. O câncer de mama é aquele com maior incidência e taxa de mortalidade na população feminina no mundo. No Brasil, o número total de novos casos chega a 60.000 por ano. O câncer de mama também acomete homens, porém é raro, representando 1% do total de casos (INCA, 2019; TIEZZI et al., 2019).

O modelo esporádico de evolução clonal e o modelo de células tronco-cancerígenas são apontados como responsáveis pela carcinogênese mamária. De acordo com a evolução esporádica clonal qualquer célula epitelial mamária pode ser alvo de mutações através de alterações genéticas e epigenéticas, contribuindo assim, para a progressão da doença. Já o modelo de células tronco-cancerígenas, postula que apenas células-tronco e progenitoras podem iniciar e manter a progressão de um tumor. Essas células-tronco podem, ainda, sofrer uma evolução clonal, fornecendo um vínculo dinâmico entre os dois modelos. Assim, a fisiopatologia do câncer de mama é um processo contínuo em que as células epiteliais mamárias adquirem rápida proliferação, progressão, poder de invasão tecidual e metástase (BOMBONATI; SGROI, 2011).

Uma vez que a etiologia do câncer de mama ainda não foi totalmente elucidada, sabe-se da influência de fatores genéticos, como a predisposição hereditária e/ou constituição hormonal, responsáveis por 5 a 10% dos casos, e ambientais, como exposição a agentes químicos, físicos e biológicos, tais como agrotóxicos, radiações e xenobióticos. Outros fatores estão relacionados ao estilo de vida, como consumo de álcool, excesso de peso e sedentarismo (SILVA et al., 2019).

Existem evidências de que os fatores alimentares influenciam nos estágios de iniciação, promoção e progressão do câncer de mama. Uma vez que a ingestão de uma dieta com alto teor de gordura e pobre em fibras alimentares está entre os fatores dietéticos que contribuem para o aumento do número de casos de neoplasia mamária (PREVIATO et al., 2015). Diante disso, é possível afirmar que certos micronutrientes possuem papéis importantes na inibição do câncer ou no seu desenvolvimento (HOLANDA et al., 2017).

O zinco, por exemplo, é um micronutriente com mecanismos diversos, uma vez que é um componente catalítico em mais de 300 enzimas, incluindo aquelas envolvidas na defesa antioxidante, atua também como cofator de proteínas que controlam a resposta a danos no DNA, enzimas de sinalização intracelular e metaloproteínas da matriz (MMP), que são proteínas envolvidas na patogênese do câncer de mama. O zinco, ainda, modula a ação de células malignas, atuando no estresse oxidativo, que influencia diretamente no comportamento dos tumores. Assim, alterações nas concentrações de zinco, como o aumento na expressão dos transportadores desse mineral podem desempenhar um papel significativo na disfunção e proliferação celular de tumores malignos (CHANDLER et al., 2016; HOLANDA et al., 2017; KELLEHER et al., 2009; LIN et al., 2011).

Portanto, em vista do caráter multifatorial do câncer e sua relevância com altas taxas de incidência/mortalidade e sabendo da influência que os nutrientes podem gerar na carcinogênese mamária, esse capítulo objetiva esclarecer o papel do mineral zinco na patogênese do câncer de mama.

## 5.2 ZINCO

O estilo de vida é o principal fator etiológico para o crescente número de doenças crônico-degenerativas em todo o mundo. Tendo como pilar o sedentarismo e o consumo excessivo de alimentos industrializados. A dieta ocidental se mostra rica em açúcares simples, gordura saturada, um baixo consumo de fibras alimentares e no tocante aos minerais, o zinco está entre os mais deficientes (CRUZ; SOARES, 2011).

O zinco é um mineral que se encontra amplamente distribuído em todo o corpo humano. As Recomendações Diárias de Ingestão (RDI's) do zinco são de 11 mg/dia para homens e 8 mg/dia para mulheres adultas. Em algumas fases da vida, as necessidades deste mineral estão aumentadas, como gestação, infância, adolescência e senilidade (Tabela 1) (HAMBIDGE et al., 2010).

**Tabela 1.** Recomendações de ingestão do mineral zinco

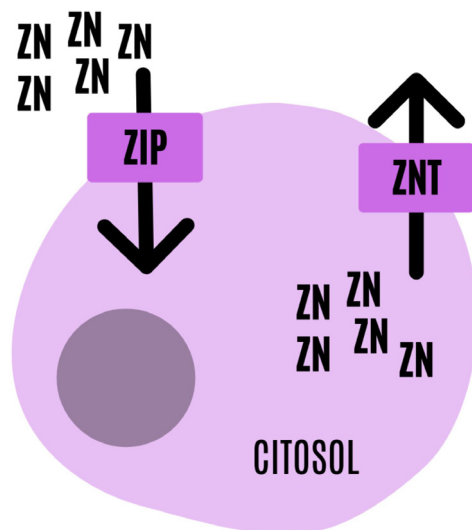
<b>ZINCO</b>			
Estágios da vida	RDA (Recomendações de doses ou cota alimentar)	EAR (Estimativa média de requerimento)	UL (Limite de ingestão máxima tolerável)
<b>Bebês</b>			
0 – 6 meses	2 mg	ND*	4 mg
7 – 12 meses	3 mg	2,5 mg	5 mg
<b>Crianças</b>			
1 – 3 anos	3 mg	2,5 mg	7 mg
4 – 8 anos	5 mg	4 mg	12 mg
<b>Homens</b>			
9 – 13 anos	8 mg	7 mg	23 mg
14 – 18 anos	11 mg	8,5 mg	34 mg
19 – 30 anos	11 mg	9,4 mg	40 mg
31 – 50 anos	11 mg	9,4 mg	40 mg
51 – 70 anos	11 mg	9,4 mg	40 mg
> 70 anos	11 mg	9,4 mg	40 mg
<b>Mulheres</b>			
9 – 13 anos	8 mg	7 mg	23 mg
14 – 18 anos	9 mg	7,3 mg	34 mg
19 – 30 anos	8 mg	6,8 mg	40 mg
31 – 50 anos	8 mg	6,8 mg	40 mg
51 – 70 anos	8 mg	6,8 mg	40 mg
> 70 anos	8 mg	6,8 mg	40 mg
<b>Gestantes</b>			
< 18 anos	13 mg	10,5 mg	34 mg
19 – 30 anos	11 mg	9,5 mg	40 mg
31 – 50 anos	11 mg	9,5 mg	40 mg
<b>Lactantes</b>			
< 18 anos	14 mg	10,9 mg	34 mg
19 – 30 anos	12 mg	10,4 mg	40 mg
31 – 50 anos	12 mg	10,4 mg	40 mg

\*ND = Não foi possível estabelecer um valor  
 Fonte: Adaptado de Padovani et al. (2006).



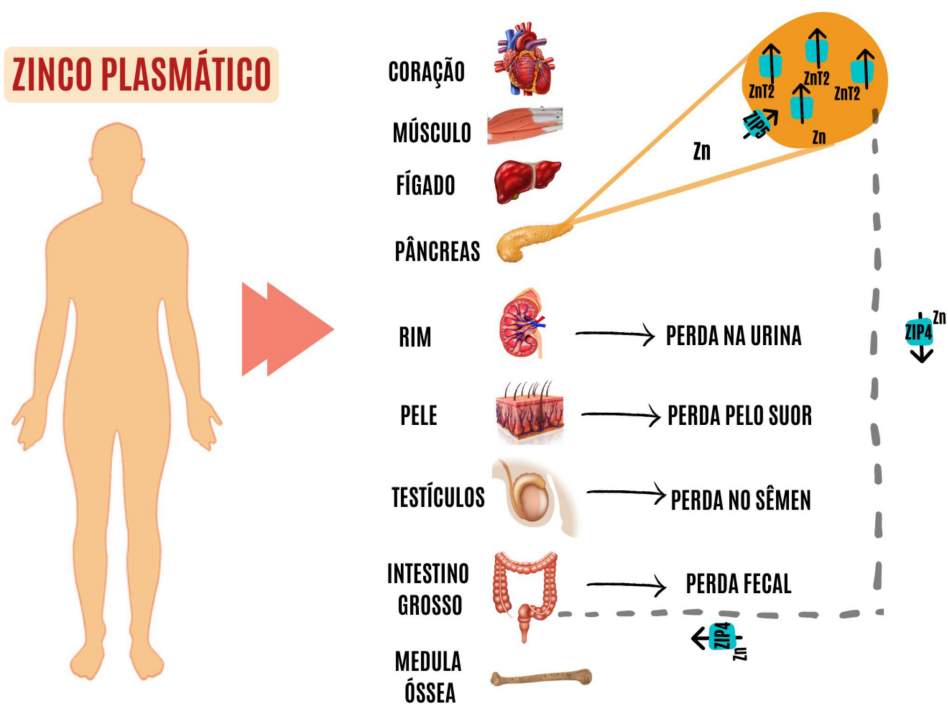
As principais fontes alimentares são carnes bovinas, peixes, aves, leite, queijos, frutos do mar, cereais de grãos integrais, gérmen de trigo, feijões, nozes, amêndoas, castanhas e semente de abóbora. Entretanto a ingestão alimentar não é garantia de utilização celular deste micronutriente, devido à ocorrência de interações químicas com outras substâncias, como oxalato, fitatos, fibras e alguns minerais, prejudicando a absorção. Os produtos animais geralmente são as melhores fontes de zinco, com relação ao conteúdo protéico e biodisponibilidade (DOMENE et al., 2008). Além de fontes alimentares, o zinco já se encontra naturalmente no organismo como 5 isótopos:  $^{64}\text{Zn}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{67}\text{Zn}$ ,  $^{68}\text{Zn}$  e  $^{70}\text{Zn}$  e geralmente estão complexados à aminoácidos, peptídeos e nucleotídeos (CRUZ; SOARES, 2011).

O zinco oriundo de ingestão oral, após ser excretado pelas secreções pancreáticas, é absorvido na superfície apical do enterócito via ZIP4 (os transportadores de zinco da família ZIP são responsáveis por transportar o zinco do espaço extracelular para organelas intracelulares) e então, transportados para a circulação via ZnT1 (A família de transportadores ZnT funcionam como exportadores de zinco intracelular) (Figura 1). Na corrente sanguínea, o zinco irá combinar-se com a albumina e aminoácidos no teor de 55% e com macroglobulinas no teor de 40%, sua forma livre é absorvida pelos tecidos periféricos, como fígado, medula óssea, testículo, rim, pele, coração, músculo esquelético e pâncreas, sendo mantido a homeostase do zinco por meio dos seus transportadores (Figura 2) (KONDAIAH et al., 2019).



**Figura 1.** Transportadores de zinco.

Fonte: Elaboração dos autores.



**Figura 2.** Absorção e homeostase do zinco no organismo.

Fonte: Elaboração dos autores.

Durante deficiência de zinco ou ingestão reduzida de zinco na dieta, as concentrações plasmáticas e teciduais desse mineral são mantidas por uma diminuição na excreção fecal e aumento simultâneo da absorção intestinal. Quando o zinco se encontra presente em altas concentrações nas células, o mesmo pode interferir em processos metalo-dependentes ou inibir proteínas. Assim, um aumento na concentração de zinco disponível induz a síntese de tioneína, que irá acoplar-se ao zinco e agir como marcador bioquímico, controlando a concentração do mineral, esse mecanismo dará formação a metalotioneína (MT), por meio da ação do zinco sobre os fatores de transcrição zinco-dependentes. Na presença de baixas concentrações de zinco na célula, o zinco é liberado através da MT12 (KONDAIAH et al., 2019).

O zinco absorvido é perdido nas fezes, urina, sêmen e suor, sendo a excreção fecal a mais sensível ao status de zinco no organismo. Para avaliar o estado nutricional relativo ao zinco, utiliza-se o indicador bioquímico de sua presença no plasma, combinada com outros indicadores, como a ingestão alimentar, zinco eritrocitário, zinco no cabelo e enzimas dependentes de zinco (HAMBIDGE et al., 2010).

O papel do zinco na nutrição humana tem sido cada vez mais ressaltado na literatura, uma vez que o zinco participa como constituinte integral de proteínas ou como co-fator enzimático em mais de 300 reações químicas, é preciso atenção quanto as recomendações, pois a deficiência de zinco está relacionada a quadros patológicos graves, tais como distúrbios gastrointestinais e seu excesso está associado à supressão da resposta imune, diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) e à redução das concentrações de cobre no plasma (CRUZ; SOARES, 2011; HAMBIDGE et al., 2010; JEN; YAN, 2010). O zinco, quando em concentrações adequadas, pode revelar-se como um agente quimiopreventivo útil para muitas doenças crônicas, tais como aterosclerose, câncer, doenças neurodegenerativas, artrite reumatoide e até mesmo envelhecimento, devido ao aumento crônico de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo (CRUZ; SOARES, 2011).

Em situações onde o zinco encontra-se deficiente, alguns mecanismos biológicos são afetados como, por exemplo, estímulos a diversos tipos de doenças inflamatórias, devido o zinco fornecer papel modulador do sistema inflamatório ocasionando alterações do mesmo. Por vez é necessário à compreensão da atuação específica do zinco no sistema imunológico, visto que as repostas podem ser diferentes em cada patologia, com o objetivo de determinar orientações dietéticas desse mineral que pode desempenhar papel protetor ou determinante em relação ao câncer de mama, bem como os mecanismos pelos quais os nutrientes podem estar envolvidos na progressão, reaparecimento e mortalidade decorrentes da doença (RABINOVICH; SMADI, 2019; MAMMADOVA-BACH; BRAUN, 2019).

### 5.3 ZINCO E CÂNCER DE MAMA

Devido à alta heterogeneidade e complexidade clínica dos tumores mamários, os alvos terapêuticos podem apresentar diferentes respostas, tornando necessário uma conduta clínica específica a fim de proporcionar um tratamento eficaz. A distribuição do zinco apresenta-se em concentrações diferentes em cada tipo de tumor, podendo ser associada a progressão do câncer e mecanismos associados aos processos celulares regulados pelo zinco, que desempenham papel sobre o estresse oxidativo e sinalização celular, com influencia direta em células cancerígenas (CIRQUEIRA et al., 2011; CHANDLER et al., 2016).

Uma vez que o zinco está envolvido em vários processos biológicos, é oportuno destacar o envolvimento desse mineral na tumoração. O aporte de nutrientes, em especial, do zinco é aumentado devido ao desenvolvimento de novos vasos sanguíneos que auxiliam na propagação do tumor, processo esse denominado angiogênese, o qual aumenta a expressão das MMP's, atuando na progressão do câncer (KAMBE, 2011; KLEIN; BISCHOFF, 2011).

Outro aspecto importante sobre a atuação do zinco no processo de tumoração é sua ação na molécula Caderina Epitelial (E-caderina), uma glicoproteína membranar que desempenha papel importante na homeostase do epitélio e estruturação celular e que é regulada pelo zinco. A E-caderina apresenta baixa expressão e diminuição de sua adesão com outras células, na presença de tumores, induzindo a metástase. Esse processo é justificado pela ação aumentada do zinco nos tecidos, podendo ser utilizado como ferramenta do processo catalítico das MMP recentemente sintetizadas, enquanto deveria estar ligado às proteínas estruturantes da E-caderina, evitando a tumoração (ASPIC, 2020; HOLANDA et al., 2017).

Apesar dos níveis de zinco sérico e nos tecidos malignos estarem em baixa nos pacientes com diversas variações neoplásicas, como carcinoma do fígado, vesícula biliar, aparelho digestivo ou próstata, nos pacientes com câncer de mama, os níveis de zinco encontram-se reduzidos no soro e elevados nos tecidos malignos, uma vez que o próprio tecido mamário possui alto requerimento de zinco. Portanto, estudos indicam que o zinco plasmático pode ser um marcador prognóstico e terapêutico do câncer de mama (ARAÚJO et al., 2016; CHEN et al., 2011).

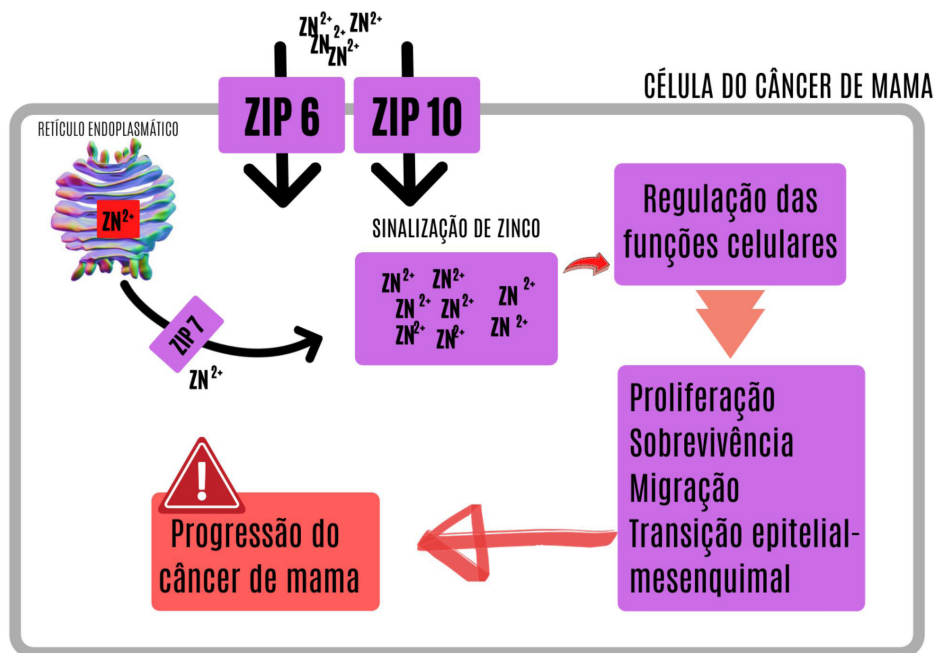
Outros estudos apontaram que a deficiência sérica dos níveis de zinco pode ter contribuído para a desregulação de vias levando à carcinogênese. Justificando-se pela contribuição do zinco para a estabilidade estrutural das proteínas denominadas “Dedos de Zinco”, esses desempenham um papel importante na regulação da rede metabólica celular, o que é essencial para a síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), transcrição de ácido ribonucleico (RNA), divisão e ativação celular (SILVERA; RHOAN, 2007).

Outro possível mecanismo que relaciona o zinco ao câncer de mama é através da MT, uma proteína que possui interação direta com o zinco. Quando a MT apresenta uma superexpressão em sua forma MT-2, a mesma pode estar associada à agressividade do carcinoma mamário que induz a metástase, em contrapartida, essa proteína em sua expressão normal, desempenha um papel multifatorial como a regulação dos metais pesados presentes no organismo, proteção contra condições de estresse oxidativo e apoptose celular (ARIAS; SANTOS, 2008; KIM et al., 2011).

A superexpressão da MT também ocorre por conta da suplementação de zinco na dieta, uma vez que o zinco é importante no controle da síntese e degradação da MT, de modo que as concentrações de MT nos hepatócitos são muito baixas na deficiência de zinco. Assim, é possível inferir que o desencadeamento de quadros patológicos graves se dá pela suplementação de zinco e não pela deficiência (ARIAS; SANTOS, 2008).

Segundo Riesop et al. (2015) e Takatani-Nakase (2018), a expressão gênica elevada dos transportadores de zinco da família ZIP, em especial de ZIP6

e ZIP10, parece inibir os transportadores transmembranares deste metal para as células normais (Figura 3), sugerindo um influxo elevado de zinco para as células tumorais. Hipótese essa já estudada por Farquharson et al. (2009) ao quantificar zinco em células tumorais e não tumorais, assim, verificaram que as amostras tumores apresentaram concentrações de zinco aproximadamente 80% mais elevadas quando comparadas às amostras não tumorais.



**Figura 3.** Superexpressão de transportadores.

Fonte: Elaboração dos autores.

Ainda durante o processo de tumorigenêse, os transportadores do tipo ZnT promovem o efluxo do excesso de zinco das células tumorais, em vesículas para uso posterior. A propósito, um mecanismo já bem descrito, é do excesso de zinco desencadeando o processo de apoptose celular em células saudáveis, porém acredita-se que o transportador ZnT2 e MT sejam superexpressos em células malignas de câncer de mama, o que as protege do hiperacúmulo de zinco, evitando a morte dessas células tumorais (LOPEZ et al., 2011; ALAM; KELLEHER, 2012). Comprovando-se assim, que alterações mecânicas no metabolismo de zinco durante a formação de tumores no câncer de mama são refletidas na alteração intrínseca natural do zinco no tecido mamário (LARNER et al., 2015).

Alguns estudos relatam a participação do zinco na defesa do organismo, influenciando na proliferação e maturação das células de defesa, com fundamental atuação no sistema imunológico. As células Natural Killer (NK), por exemplo, são

importantes para a imunidade contra infecções e tumores. Em casos de deficiência ou diminuição da disponibilidade de zinco para as células do sistema imune, como por exemplo, o acúmulo excessivo de zinco no tecido neoplásico, o organismo contará com uma defesa debilitada, contribuindo para o desenvolvimento e progressão de tumores. Devido a essa desregulação do sistema imunológico, células de defesa irão depositar seus produtos no tecido neoplásico, como uma tentativa de proteger o organismo, o qual irá gerar um infiltrado inflamatório no tecido, dessa forma, a associação de inflamação e câncer mostra que inflamação crônica é o fator epigenético que mais contribui para o surgimento e progressão do tumor (ONUHCIC; CHAMMAS, 2010; CRUZ; SOARES, 2011; GAO et al., 2018).

De maneira geral, o zinco exerce papel em diversos processos celulares, estabilizando estruturas de proteínas e ácidos nucleicos, preservando a integridade de organelas subcelulares, participando do transporte, através de enzimas, desempenhando um papel importante em fenômenos imunológicos. O zinco parece auxiliar na questão preventiva do câncer, pois o mesmo atua como componente antioxidante, porém em estágios avançados da doença, com alta agressividade de invasão celular, o mineral apresenta papel inverso, pois será utilizado como nutriente para suprimento das células malignas (ROCKENBACH et al., 2008).

#### 5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos processos multifatoriais do zinco, pode-se sugerir que o mesmo encontra-se intimamente ligado ao processo patológico do câncer de mama, através do seu acúmulo tecidual causado pelo aumento da expressão dos transportadores de zinco e assim, alterando a atividade das metaloproteínas, com participação na promoção e progressão tumoral. Ainda assim, é possível observar que o mineral pode atuar na prevenção de processos simples relacionados à redução do estresse oxidativo, uma vez que o zinco parece não atuar benéficamente em tumorações com estágios avançados. No entanto, são necessários mais estudos com uma maior explanação a fim de fortalecer os mecanismos apresentados.

#### REFERÊNCIAS

ALAM, S.; KELLEHER, S. L. Mecanismos celulares da desregulação do zinco: uma perspectiva da homeostase do zinco como fator etiológico no desenvolvimento e progressão do câncer de mama. *Nutrients*, v. 4, n. 8, p. 875-903, 2012.

ARAÚJO, L. A. et al. Ferro, zinco e cobre séricos e estado nutricional de pacientes com neoplasia mamária. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, v. 36, n. 2, p. 132-139, 2016.

ARIAS, A. R. L.; SANTOS, V. G. Metalotioneína: processos celulares e moleculares. **Cad. saúde colet.**, v. 16, n. 4, 2008.

ASPIC, Associação Portuguesa de Investigação em Cancro. **O-manosilação e N-glicosilação: dois mecanismos que regulam coordenadamente as funções supressoras tumorais da E-caderina**. Porto, 2020.

BOMBONATI, A.; SGROI, D. C. The molecular pathology of breast cancer progression. **The Journal of pathology**, v. 223, n. 2, p. 308-318, 2011.

CHANDLER, P. et al. Subtype-specific accumulation of intracellular zinc pools is associated with the malignant phenotype in breast cancer. **Molecular cancer**, v. 15, n. 1, p. 2, 2016.

CHEN, H. et al. Ensemble modeling coupled with six element concentrations in human blood for cancer diagnosis. **Biological trace element research**, v. 143, n. 1, p. 143-152, 2011.

CIRQUEIRA, M. B. et al. Subtipos moleculares do câncer de mama. **Femina**, v. 39, n. 10, p. 499-503, 2011.

CRUZ, J. B. F.; SOARES, H. F. Uma revisão sobre o zinco. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 1, p. 207-222, 2011.

DOMENE, S. M. Á. et al. Estimativa da disponibilidade de zinco em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas. **Rev. Nutr.**, v.21, n.2, p.161-167, 2008.

FARQUHARSON, M. J. et al. Zinc presence in invasive ductal carcinoma of the breast and its correlation with oestrogen receptor status. **Phys Med Biol**, v. 54, n. 13, p. 4213-4223, 2009.

GAO, H. et al. The role of zinc and zinc homeostasis in macrophage function. **Journal of immunology research**, v. 2018, 2018.

HAMBIDGE, M. K. et al. Zinc bioavailability and homeostasis. **Am J Clin Nutr.**, v.91, n.5, p. 1478S-1483S, 2010.

HOLANDA, A. O. N. et al. Zinc and metalloproteinases 2 and 9: What is their relation with breast cancer? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 63, n. 1, p. 78-84, 2017.

HOLANDA, A. O. N. et al. Influência da zincemia sobre as concentrações das metaloproteinase 2 e 9 em mulheres com câncer de mama. **Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health**, v. 2178, p. 2091, 2017.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. **A situação do câncer de mama no Brasil: síntese de dados dos sistemas de informação**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Rio de Janeiro: INCA, 2019.

JEN, M.; YAN, A.C. Syndromes associated with nutritional deficiency and excess. **Clin Dermatol.**, v.28, n.6, p.669-685, 2010.

KAMBE, T. An overview of a wide range of functions of ZnT and Zip zinc transporters in the secretory pathway. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 75, n. 6, p. 1036-1043, 2011.

KELLEHER, S. L. et al. Mammary gland zinc metabolism: regulation and dysregulation. **Genes & nutrition**, v. 4, n. 2, p. 83-94, 2009.

KIM, H. G. et al. Metallothionein-2A overexpression increases the expression of matrix metalloproteinase-9 and invasion of breast cancer cells. **FEBS letters**, v. 585, n. 2, p. 421-428, 2011.

KLEIN, T.; BISCHOFF, R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. **Amino acids**, v. 41, n. 2, p. 271-290, 2011.

KONDAIAH, P. et al. Iron and Zinc Homeostasis and Interactions: Does Enteric Zinc Excretion Cross-Talk with Intestinal Iron Absorption? **Nutrients**, v. 11, n. 8, p. 1885, 2019.

LARNER, F. et al. Zinc isotopic compositions of breast cancer tissue. **Metallomics**, v.7, n.1, p. 112–117, 2015.

LIN, C.Y. et al. Matrix metalloproteinase 9 cooperates with transcription factor Snail to induce epithelial–mesenchymal transition. **Cancer science**, v. 102, n. 4, p. 815-827, 2011.

LOPEZ, V. et al. A superexpressão de ZnT2 reprimem os efeitos citotóxicos da hiperacumulação de zinco em células tumorais da mama T47D nulas de metalotioneína nulas malignas. **Cancer Lett.**, v. 304, n. 1, p. 41–51, 2011.

MAMMADOVA-BACH, E.; BRAUN, A. Zinc Homeostasis in Platelet-Related Diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 21, p. 52-58, 2019.

ONUCHIC, A. C.; CHAMMAS, R. Câncer e o microambiente tumoral. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 1, p. 21-31, 2010.

PADOVANI, R. M. et al. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 741-760, 2006.

PREVIATO, H. D. R. A. et al. Caracterização sociodemográfica, nutricional e dietética de mulheres com câncer de mama atendidas em hospital público de Minas Gerais. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, v. 40, n. 2, p. 120-128, 2015.

RABINOVICH, D.; SMADI Y. Zinc. [Atualizado em 18 de setembro de 2019]. In: Stat Pearls [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): Stat Pearls Publishing; 2019.

RIESOP, D. et al. Zinc distribution within breast cancer tissue: A possible marker for histological grading? **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 141, n. 7, p. 1321–1331, 2015.



ROCKENBACH, G. et al. **Alterações no consumo alimentar e no estresse oxidativo de mulheres com câncer de mama no período de tratamento antineoplásico**. 2008. 118f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SILVA, H. R. et al. Analysis of the effects of supplementation of certain antioxidants on adjuvant cancer treatment. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. 1-12, 2019.

SILVERA, S. A. N.; ROHAN, T. E. Trace elements and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. **Cancer Causes & Control**, v. 18, n. 1, p. 7-27, 2007.

TAKATANI-NAKASE, T. Zinc Transporters and the Progression of Breast Cancers. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 10, p. 1517-1522, 2018.

TIEZZI, D. G. et al. Current Breast Cancer Screening Scenario in Brazil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v. 41, n. 11, p. 633-635, 2019.

**PARTE II**  
**BIOMARCADORES**



# Capítulo 6

## Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (HER2) e o Câncer de Mama

*Carla Solange de Melo Escórcio Dourado*

*João Paulo da Silva-Sampaio*

*Luana Mota Martins*

### 6.1 INTRODUÇÃO

Fatores de crescimento são polipeptídeos que estimulam a proliferação celular e podem apresentar um papel importante no processo carcinogênico. O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é uma das quatro proteínas receptoras do fator de crescimento transmembranar que compartilham semelhanças em estrutura e função. Juntos, compreendem a família c-erbB de receptores Tirosina-Kinase (TK) (GOUSTIN; LEOF; SHIPLEY, 1986). O EGFR, é também conhecido como HER1 ou c-erbB1, foi o primeiro membro deste grupo a ser descrito, é uma glicoproteína de 170-kd na qual consiste em um domínio extracelular, uma região transmembranar e outra intracelular (YARDEN; SLIWKOWSKI, 2001).

A família de receptores ErbB consiste em quatro membros EGFR/HER1/ ErbB1, HER2/rbB2, HER3/ErbB3 e HER4/ErbB4 (YARDEN; SLIWKOWSKI, 2001; CITRI; YARDEN, 2006). Os ErbB são ativados após homodimerização ou heterodimerização (MARMOR; SKARIA; YARDEN, 2004). Os receptores HER ligam-se ao fator de crescimento epidérmico (EGF) ou outros fatores (KONDO; TSUKUDA; ISHIGURO, 2010). Diferentes genes codificam os peptídeos constituintes desses receptores. O HER1 está localizado no cromossomo 7, HER2, HER3 e HER4, nos cromossomos 17,12 e 2, respectivamente. No entanto, já foram descritas uma porção de formas variantes desses receptores associados à ativação celular desordenada. Quando estimulados por ligantes, esses receptores formam dímeros que se transfosforilam, vindo em seguida a transdução de sinais intracelulares que leva à invasão e ao crescimento de células malignas (LEITE; COSTA; CALLADO, 2012).

Vários estudos associaram a expressão do HER2 a uma maior agressividade biológica em vários tipos de tumores sólidos, incluindo os carcinomas do pulmão, cólon, ovário, da bexiga, e da cabeça e pescoço. A estimulação desse receptor

medeia vários acontecimentos que são críticos para a formação e progressão do tumor, incluindo a proliferação, a invasão e a angiogênese (SALOMON, 1995).

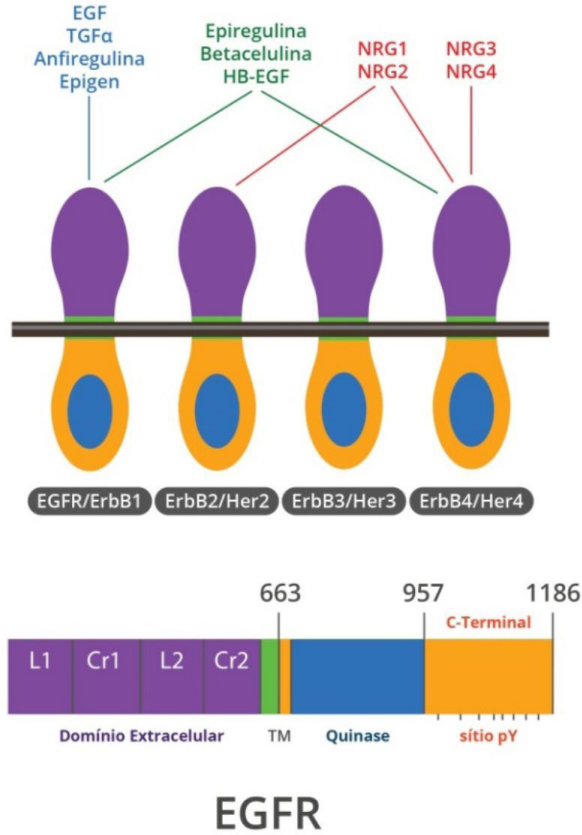
## **6.2 ESTRUTURA E MECANISMO DE AÇÃO NO CÂNCER DE MAMA**

O HER2 é um dos receptores da família TK, localiza-se na superfície celular e possui três domínios: extracelular, a qual se acopla ao ligante, transmembrânica e intracelular, com o sítio catalítico de TK. No domínio extracelular reside o sítio de ligação, na porção transmembrânica há a uma alfa-hélice hidrofóbica e no domínio citosólico (intracelular) localiza-se o resíduo proteico com a atividade TK (TIBES; TRENT; KURZROCK, 2005).

Os receptores acoplados à TK regulam uma série de eventos fundamentais tanto para as células normais quanto para as células tumorais no que diz respeito ao controle e à regulação da sinalização celular necessários para desencadear o ciclo celular, a migração, o metabolismo, a proliferação e a diferenciação celular (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010).

No câncer de mama, o HER2 encontra-se desregulado, e essa desregulação pode ser ativada a partir de uma variedade de mecanismos, dentre os quais se destacam: mutações, superexpressão do receptor, superprodução de ligantes ou ainda a associação destes dois últimos mecanismos (BURKHARD; SONKE; HARTMUT, 2006). Com relação aos ligantes, já foram descritos 12 tipos extracelulares para a família do EGF, os ligantes do HER1 incluem EGF, TGF alfa, HB-EGF, Anfiregulina, Epiregulina e Betacelulina (Figura 1). Já as Neuregulinas ligam tanto HER3 quanto HER4. Sabe-se, porém que durante a heterodimerização o HER2 é o receptor ligante prioritário do HER1 (ROSKOSKI, 2004).

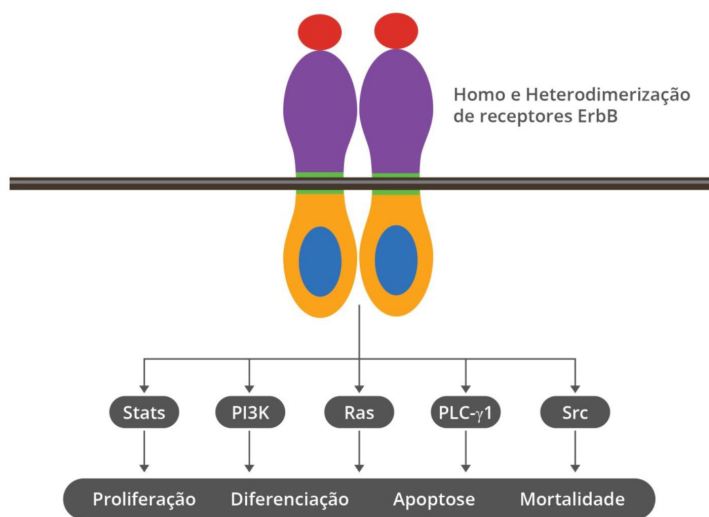
A interação entre receptor e ligante pode resultar em homo ou heterodimerização, levando a autofosforilação cruzada dos resíduos citoplasmáticos de TK, que por sua vez poderão funcionar como sítios para moléculas sinalizadoras, responsáveis pela inicialização da cascata de eventos intracelulares que culminará na formação dos mais variados efeitos pró-carcinogênicos (ELIZABETH; KAREN; LI, 2011). Assim, quando estimulados por seus respectivos ligantes, os receptores HER formarão dímeros que se transfosforilarão, vindo em seguida a transdução de sinais intracelulares que levarão à invasão e ao crescimento de células malignas (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010).



**Figura 1.** Estrutura dos receptores da família HER.

Fonte: Elaboração dos autores.

Após a dimerização e a internalização do HER2 ocorrerá a autofosforilação dos resíduos citoplasmáticos de TK, permitindo a fosforilação de outras proteínas que levarão à transdução do sinal e conseqüente cascata de eventos celulares (Figura 2). Quando o receptor for fosforilado ele recrutará as proteínas Shc e Grb2, que agirão via Sos, ativando a Ras. A seguir, ocorrerá a cascata de ativação Raf/MAPK/ErK/MEK, levando à fosforilação das MAPK/ErK1/2 que induzirá a expressão de fatores de crescimento. A ativação das vias MAPK estará associada com a divisão celular, outras vias ativadas pelo HER2 se relacionarão com o prognóstico do câncer de mama, como por exemplo: a c-Src, estará associada com a proliferação e a sobrevivência celular, já a resistência aos agentes citotóxicos será biologicamente mediada pela ativação da proteína STAT (HERBST, 2004).



**Figura 2.** Mecanismo de ação simplificado do HER2 no câncer de mama.

Fonte: Elaboração dos autores.

### 6.3 POLIMORFISMO

O polimorfismo genético manifesta-se quando duas ou mais formas diferentes de um mesmo gene, alelos, ocorrem simultaneamente em uma mesma população (BROCKMOLLER et al., 2008). As variações nas sequências de nucleotídeos podem ser substituições, deleções, inserções e duplicação ou deleção de genes. A propósito, um gene será considerado polimórfico quando o alelo menos frequente ocorrer na população com uma frequência maior que 1% (MILLER et al., 2001).

Dentre os polimorfismos relacionados com o câncer de mama destaca-se o SNP, que apresenta duas possibilidades de nucleotídeos na sequência do DNA e geralmente formam três possibilidades de genótipos, que podem ou não diferir em fenótipos (BROCKMOLLER et al., 2008). Estas variações genotípicas podem influenciar a taxa de transcrição gênica, a estabilidade do RNA mensageiro (RNAm), ou a quantidade e atividade das proteínas (RISCH, 2000).

A presença de SNP tem sido frequentemente implicada na carcinogênese de uma variedade de tumores sólidos, incluindo os carcinomas de mama, pulmão, cólon, ovário, bexiga, cabeça e pescoço (DONG et al. 2008). A propósito uma das mais importantes mutações genéticas no cancer de mama é o SNP do gene do HER2, variante rs1136201, localizado no cromossomo 17q21 (MA et al., 2011), que consiste na substituição do aminoácido Valina (G) pela Isoleucina (A) no

códon 655 (GTC > ATC) no domínio transmembranar do receptor HER2 (EL-MOUGY et al., 2008).

No câncer o HER2 pode ser desregulado a partir de uma variedade de mecanismos, dentre os quais se destacam mutações, polimorfismos, superexpressão do receptor, superprodução de ligantes ou ainda a associação destes dois últimos mecanismos (LEITE; COSTA; CALLADO, 2012). Análises de clones de DNA humanos identificaram um polimorfismo na região de codificação transmembrana no codão 655 do gene HER2. Este polimorfismo que codifica isoleucina (Ile; ATC) ou valina (Val; GTC) foi relatado em diferentes tipos de câncer. A presença de Val (G) na posição transmembranar estabiliza a formação de um dímero ativo da proteína que predispõe uma auto-atividade do receptor HER-2. Em adição, a substituição de Ile (A) por Val (G) no códon 655 pode alterar a hidrofobicidade da proteína HER2, afetando a estabilidade conformacional dos domínios hidrofóbicos, como o domínio transmembranar. No câncer de mama a presença desse polimorfismo aumenta a dimerização, a autofosforilação e a atividade tirosina quinase do HER-2, o que pode causar a transformação celular (NAKAJIMA et al., 1995; TAKANO et al., 1995).

Portanto, a substituição de Ile (A) por Val (G) no códon 655 pode alterar a hidrofobicidade da proteína HER2, afetando a estabilidade conformacional dos domínios hidrofóbicos, como o domínio transmembrana, promovendo a transdução de sinais intracelulares que leva à invasão e ao crescimento de células malignas.

#### 6.4 SUPEREXPRESSÃO DO HER2 *VERSUS* O PROGNÓSTICO

Devido à expressão de diferentes subtipos moleculares, o câncer de mama, é uma doença que apresenta uma variedade de fatores prognósticos. Na verdade, fator prognóstico nada mais é que um marcador associado à sobrevida global do paciente podendo, portanto determinar o curso clínico ou o risco de recidiva da doença. Desde 1996, quando a American Society of Clinical Oncology publicou as diretrizes recomendando que o status HER2 deveria ser determinado em todos os casos de câncer de mama invasivo. Desta forma, essa proteína passou a representar um importante marcador tumoral de sobrevida e conseqüentemente alvo para o desenvolvimento de terapias contra o câncer. Vale ressaltar ainda que a superexpressão do HER2 pode levar ao crescimento excessivo do tumor, invasão do tecido mamário e a desfechos clínicos relevantes (WOLFF et al., 2007).

Os marcadores comumente mais importantes e utilizados para a definição do tratamento e estabelecimento do prognóstico do câncer de mama são a expressão dos receptores hormonais de estrógeno e progesterona, e a superexpressão ou amplificação do receptor do fator de crescimento epidérmico

humano (HER2) associado a variáveis clínicas e patológicas, tais como: o envolvimento linfonodal, tamanho tumoral, tipo histológico, grau do tumor e margens cirúrgicas (MORCOS, 2013).

Apesar dos receptores do fator de crescimento epidérmico da família HER ser fundamentais para o crescimento e o desenvolvimento de vários órgãos e sistemas, no carcinoma mamário, a superexpressão do HER2 está associada a prognóstico desfavorável e risco de recidiva, sendo também determinante da escolha da terapia medicamentosa. Desta forma, esses achados revelam a necessidade de se realizar o diagnóstico do câncer de mama mais precocemente a fim de se oferecer às pacientes melhores perspectivas de sobrevida (FREITAS, 2008).

O câncer de mama HER2 positivo possui elevada expressão da oncoproteína HER2 e receptores hormonais negativos. Em geral, esse subtipo molecular corresponde a cerca de 20% dos casos. As mulheres com diagnóstico primário de carcinoma de mama e com superexpressão de HER2 possuem um pior prognóstico em relação àquelas que não apresentam essa amplificação gênica (WOLFF et al., 2007).

Assim a avaliação diagnóstica do HER2 é usada como fator prognóstico do comportamento mais agressivo do tumor (PICCART-GEBHART, 2005), preditivo e seletivo em relação aos benefícios clínicos para o tratamento com Trastuzumabe, um anticorpo monoclonal humanizado que atua especificamente no domínio extracelular do receptor HER2, cujos benefícios são significativos (WOLFF et al., 2007).

A terapia contra o câncer vem se tornando cada vez mais específica devido à descoberta e a identificação de novos biomarcadores. A rigor, a expressão do HER2, Ki67 e dos receptores hormonais de estrogênio e progesterona são os biomarcadores que vem proporcionando um melhor entendimento da doença (CESAR et al. 2012). Portanto, é de suma importância que o estudo do status do HER2 seja feito de maneira segura, precisa e confiável (HANNA et al., 2007).

Embora atualmente se considere que a análise de perfis de expressão de gene HER2 seja o método mais confiável para classificar os carcinomas mamários, na maioria das vezes uso dessa técnica é limitado devido ao alto custo. Na prática clínica, a maior parte da rotina de diagnóstico ainda é executada por ImunoHistoQuímica (IHQ) (IRIGOYEN et al., 2011). Contudo, uma técnica comumente utilizada por médicos nos consultórios que visa a detecção inicial da doença é a biópsia por agulha grossa, a qual consiste na retirada de pequenos fragmentos de tecido mamário diretamente da lesão (SLAMON et al., 1987).

As mais recentes abordagens moleculares tanto na literatura quanto na clínica apontaram uma modificação de fenótipo do receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP) e HER2 entre o câncer primário e o metastático.



A evolução do HER2 no câncer metastático confirma que o diagnóstico inicial da amplificação do HER2 é um marcador terapêutico clinicamente importante. Apesar das dificuldades de interpretação e problemas de heterogeneidade do tumor, a maioria dos estudos que compararam o status do HER2 entre a doença primária e a recidiva demonstrou que em geral, há progressão do câncer (SIMMONS et al., 2009; STAFIN et al., 2014).

A duração relativamente longa entre o diagnóstico da doença primária e a recidiva pode favorecer a recorrência mais tarde de HER2-negativo para positivo. Para evitar esse viés a cirurgia pode ser mais adequada como prática clínica de rotina que a biópsia de doença metastática a distância. Portanto, a análise de tecidos tumorais deve fazer parte da prática clínica diária na avaliação da doença loco-regional e metástase à distância, visto que os resultados revelaram que foi necessário alterar a terapia em 17% dos casos após a comparação dos receptores antes e depois da recaída da doença. Desta forma, a falta de biópsia na doença recorrente pode potencialmente negar tais mulheres de uma terapia alvo (AMIR; CLEMONS, 2009; SIMMONS et al., 2009; SHARMA et al., 2010; THOMPSON et al., 2010).

As alterações nas proteínas receptoras no câncer de mama devem ser interpretadas cuidadosamente (AMIR; CLEMONS, 2009), pois pelo menos três fatores podem estar relacionados: resultados falso-positivos e falso-negativos na avaliação da expressão e da heterogeneidade dos receptores e, eventualmente, modificações na biologia do tumor. Em síntese, os resultados apontam um padrão de discordância muito elevado entre a expressão dos receptores hormonais e o tumor primário de mama e as lesões metastáticas correspondentes, enquanto o HER2 permaneceu relativamente constante (CURTIT et al., 2013).

Contudo, os RE ou PR positivos já foram negativamente associados com o HER2, embora os resultados para RE não tenham sido estatisticamente significantes na análise multivariada. Quando considerada a combinação do estado RE/PR positivo para qualquer um dos receptores hormonais as mulheres foram mais propensas a ser HER2 positivo em comparação com aquelas com RE-negativo/PR-negativo, embora que os resultados não tenham sido estatisticamente significantes. Esses resultados apontam que a superexpressão deste biomarcador (HER2) está fortemente correlacionado com características clínicas patológicas desfavoráveis do tumor, como PR negativo e estágio avançado do tumor (PARISE et al., 2009).

As características clínico-patológicas, imunohistoquímicas, padrões de sobrevivência, recaída e fatores de risco dos diferentes subtipos moleculares de câncer de mama foram analisadas e descobriu-se que o subtipo HER2 possui características histopatológicas e IHC mais desfavoráveis, bem como uma pior sobrevida e recaída em menos tempo, enquanto que os carcinomas luminiais apresentaram características de tumor de mama mais benignos e um melhor

prognóstico. Já com relação aos fatores de risco, no HER2 destacam-se a paridade, o Índice de Massa Corporal (IMC) e a menopausa como agentes determinantes da etiologia da doença (IRIGOYEN et al., 2011).

Desta forma, o subtipo molecular de câncer de mama que apresentar amplificação do gene HER2 ou superexpressão da proteína HER2 será chamado de HER2-positivo, este crescerá mais rapidamente, será mais propenso a se espalhar e voltar, em comparação com o subtipo HER2-negativo devido ao aumento da atividade metastática das células tumorais que expressam a proteína HER2 (WOLFF et al., 2007).

Já do ponto de vista clínico, o HER2 é um importante biomarcador no câncer de mama, pois sua expressão aumentada será determinante para a escolha da quimioterapia. Assim, a detecção precoce do status HER2 pode trazer grandes benefícios e contribuir fortemente para a tomada de decisão sobre o tratamento a ser seguido no câncer de mama (IRIGOYEN et al., 2011).

Assim, a superexpressão do HER2 no câncer de mama indica uma associação negativa com a sobrevida, e entre os mecanismos que contribuem para esse fato destacam-se a ativação da transcrição e a amplificação do gene (BUITRAGO; UEMURA; SENA, 2011).

## REFERÊNCIAS

- AMIR E., CLEMONS M. Should a biopsy be recommended to confirm metastatic disease in women with breast cancer? **Lancet Oncol**, v.10, p. 933-35, 2009.
- BROCKMÖLLER, J.; TZVETKOV, M.V. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. **Eur J Clin Pharmacol.**, v.64, p.133-157, 2008.
- BUITRAGO F.; UEMURA G.; SENA M.C.F. Fatores prognósticos em câncer de mama. **Com Ciências Saúde**, v.22, n. 1, p. 69-82, 2011.
- BURKHARD B. et al. Mechanisms of egfr GeneTranscription Modulation: Relationship to Cancer Risk andTherapy Response. **Clin Cancer Res**, v.12, n.24, p.7252-60, 2006.
- CESAR P.G.C. et al. Utilização de plataforma gênica no prognóstico do câncer de mama. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**,v.37, n.3, p. 154-61, 2012.
- CITRI A.; YARDEN Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. **Nat Rev Mol-Cell Biol**, v. 7, n.7, p.505–516, 2006.
- CURTIT E. et al. Discordances in Estrogen Receptor Status, Progesterone Receptor Status, and HER2 Status Between Primary Breast Cancer and Metastasis. **The Oncologist**, v.18, p.667–74, 2013.

- DONG, L.M. et al. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. **JAMA**, v. 299, p. 2423-2436, 2008.
- EL-MOUGY, H. et al. Plasma Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 levels (HER-2) and HER-2 codon 655 polymorphism in Females Suffering from Breast Cancer. **J. Am. Sci.**, v. 8, n. 4, p. 546-552, 2012.
- FREITAS, C.S. Estendendo o Conhecimento sobre a Família Her-Receptores para o Fator de Crescimento Epidérmico e seus ligantes às Malignidades Hematológicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 54, n. 1, p. 79-86, 2008.
- GOUSTIN A.S. et al. Growth factors and cancer. **Cancer Research**, v. 46, p.1015–1029, 1986.
- HANNA W. et al. Updated recommendations from the Canadian National Consensus Meeting on HER2/neu testing in breast cancer. **Curr Oncol**, v.14, p.149-53, 2007.
- HERBST R.S. Review of epidermal growth factor biology. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.59, p.21-26, 2004.
- IRIGOYEN M.A. et al. Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics. **An. Sist. Sanit. Navar**, v. 34, n. 20, p. 219-33, 2011.
- KONDO N. et al. Antitumor effects of lapatinib (GW572016), a dual inhibitor of EGFR and HER-2, in combination with cisplatin or paclitaxel on head and neck squamous cell carcinoma. **Oncol Rep**, v.23, n.4, p.957-63, 2010.
- LEITE C.A.V.G. et al. Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v.8, n.29, p.130-142, 2012.
- LEMMON M.A.; SCHLESSINGER J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. **Cell**,v.141,n.7,p.1117-34, 2010.
- MARMOR M.D.; SKARIA K.B.; YARDEN Y. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 58, n.3, p. 903–913, 2004.
- MILLER, M.C.; MOHRENWEISER, H.W.; BELL, D.A. Genetic variability in susceptibility and response to toxicants. **Toxicol. Lett.**, v. 120, p. 269-280, 2001.
- MORCOS N.Y. et al. Postoperative simple biochemical markers for prediction of bone metastases in Egyptian breast cancer patients. **Cancer Medical Science**, v. 7, p. 305, 2013.
- NAKAJIMA M. et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb-2 in human gastric carcinomas. **Cancer**, v.85, p.1894–1902, 1999.

PARISE C. et al. Breast cancer subtypes as defined by estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California. **The Breast Journal**, v. 15, n. 6, p.593–602, 2009.

PICCART-GEBHART M.J. et al. Trastuzumabe after adjuvant chemotherapy in HER-2-positive breast cancer. **N Engl J Med**, v. 353, p. 1659-72, 2005.

RISCH, N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. **Nature**, v. 405, n. 6788, p. 847-856, 2000.

ROSKOSKI R.Jr. The ErbB/HER receptor protein-tyrosine kinase and câncer. **Biomedical and Biophysical Research Communications**, v. 319, n.1, p. 1-11, 2004.

SALOMON D.S. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. **Oncol Hematol**, v. 19, p.183–232, 1995.

SHARMA A. et al. Surgical oncology: why biopsying etastatic breast cancer should be routine. **Nat Rev Clin Oncol**, v.7, p.72-4, 2010.

SIMMONS C. et al. Does confirmatory tumor biopsy alter the management of breast cancer patients with distant metastases? **Ann Oncol**, v.20, p.1499-1504, 2009.

SLAMON D.J. et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene. **Science**, v. 235, p.177-82, 1987.

STAFIN I. et al. Fatores prognósticos no câncer de mama. **Rev Pat Tocantins**, v.1, n.1, p.14-29, 2014.

TAKANO K. et al. Contribution of hydrophobic residues to the stability of human lysozyme: calorimetric studies and X-ray structural analysis of the five isoleucine to valine mutants. **J Mol Biol**, v. 254, p. 62–76, 1995.

THOMPSON A.M. et al. Prospective comparison of switches in biomarker status between primary and recurrent breast cancer: the Breast Recurrence In Tissues Study (BRITS). **Breast Cancer Research**, 2010.

TIBES R.; TRENT J.; KURZROCK R. Inibidores da tirosina quinase e o alvorecer da terapêutica do câncer molecular. **Revisão Anual de Farmacologia e Toxicologia**, v. 45, n. 1, p. 357-384, 2005.

WOLFF A. et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. **J Clin Oncol**, v.25, p. 118-45, 2007.

WOLFF A.H.M. et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. **J Clin Oncol**, v.25, p.118-45, 2007.

YARDEN Y.; SLIWKOWSKI M.X. Untangling the ErbB signalling network. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 2, p.127–137, 2001.

# Capítulo 7

## CYP19A1 e o Câncer de Mama

*Maria da Conceição Barros Oliveira  
Danylo Rafhael Costa Silva*

### 7.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama tornou-se um evidente problema de saúde mundial, sendo considerada a malignidade mais frequente entre as mulheres de países desenvolvidos e subdesenvolvidos (ABEJE; SEME; TIBELT, 2019), apresentando uma estimativa mundial no ano de 2018, de aproximadamente 2.089.000 casos novos e taxa de mortalidade de aproximadamente 627.000 óbitos (BRAY et al., 2018; FERLAY et al., 2019). Apesar da incidência do câncer de mama ser mais elevada nos países mais desenvolvidos em comparação com países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, sua mortalidade é mais elevada em países subdesenvolvidos (GHONCHEH; POURNAMDAR; SALEHINIYA, 2016).

No Brasil o câncer de mama é o tipo da doença mais comum entre as mulheres correspondendo a cerca de 30% dos casos novos. Estimam-se 66.280 casos novos de câncer de mama, para cada ano do triênio 2020-2022 (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2019). Além disso, cerca de 40% das pacientes que sofrem com a recidiva da doença morrem principalmente nos primeiros 2 a 3 anos, onde o risco de recidiva é maior. Embora, as taxas de mortalidade sejam elevadas, se diagnosticado e tratado oportunamente, o câncer de mama pode ser considerado uma doença de prognóstico relativamente bom (JEMAL et al., 2008; GERBE; FREUND; REIMER, 2010). Todavia, no Brasil a doença continua sendo diagnosticada em estágios avançados quando comparada com países desenvolvidos (VIEIRA; FORMENTON; BERTOLINI, 2017).

O câncer de mama é uma doença heterogênea de etiologia desconhecida que envolve múltiplos fatores de risco, inclusive as alterações genéticas (COSTA-SILVA et al., 2017; YEO; GUAN, 2017). Contudo, tem sido sugerido que estratégias terapêuticas e prognósticas mais adequadas no câncer de mama podem ser desenvolvidas usando a expressão gênica de genes que estão associados ao desenvolvimento, crescimento e agressividade do câncer de mama como biomarcadores, incluindo o gene *CYP19A1* que codifica a enzima

aromatase (CAMPOS-VERDES et al., 2018; COSTA-SILVA et al., 2017; FRIESENHENGST et al., 2018; SAVOLAINEN-PELTONEN et al., 2018).

A enzima aromatase é responsável pela conversão de androgênios em estrogênios e frequentemente se apresenta altamente expressa em mulheres com câncer de mama com receptor de estrogênio positivo, resultando em aumento dramático da produção local de estrogênio impulsionando a progressão do câncer mamário (CHAN; PETROSSIAN; CHEN, 2016). A expressão da enzima aromatase é regulada principalmente ao nível transcricional do seu gene codificador *CYP19A1*, localizado no cromossomo 15 do genoma humano, que utiliza promotores alternativos para regular a transcrição de um modo específico do tecido (ZHAO et al., 2016; TO et al., 2015).

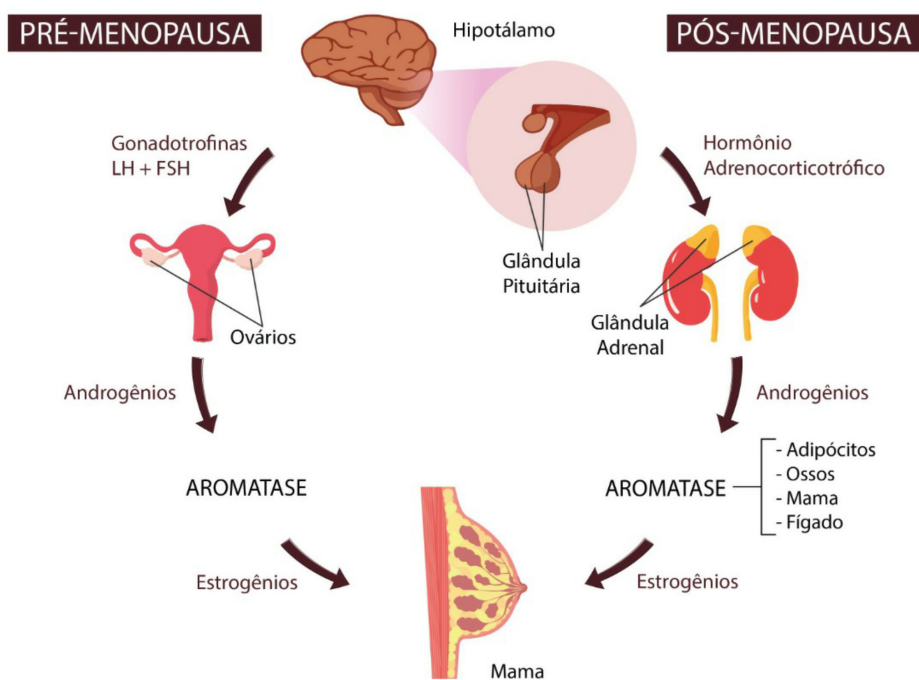
A propósito, alguns estudos tem avaliado o *CYP19A1* no câncer de mama, no entanto, muitos destes estudos mostraram resultados controversos. Miyoshi et al. (2003) não detectaram associação significativa entre os níveis de expressão do *CYP19A1* e o câncer de mama. Contudo Friesenhengst et al. (2018) mostraram uma associação significativa entre uma alta expressão do gene *CYP19A1* e status menopausal, receptor de estrógeno e recidivas. Em outro estudo, um SNP do *CYP19A1* foi associado a uma diminuição da densidade mineral óssea em mulheres na pós-menopausa com câncer de mama com receptor de estrogênio positivo tratadas com inibidores da aromatase (NAPOLI et al., 2013).

## 7.2 ESTRUTURA E MECANISMO DE AÇÃO DO GENE *CYP19A1*

O gene *CYP19A1* está localizado no cromossomo 15q 21.2 abrangendo aproximadamente 123 quilobases (kb) e consiste em uma região não traduzida (UTR) 5' de 93 kb que contém vários éxons alternativos não traduzidos que são regulados por promotores específicos de tecido e uma região codificadora na extremidade 3' de 30 kb que contém nove éxons (II-X) com o local inicial da tradução ATG localizado no éxon II. Entre os dez promotores alternativos específicos para tecidos estão I.1, I.2 e I.2a na placenta; I.4 no tecido adiposo e na pele; I. 5 nos tecidos fetais; I.f no cérebro; I.7 nas células endoteliais; I.6 no osso; I. 3 no tecido adiposo e PII em gônadas e tecido adiposo (ZHAO et al., 2016; BULUN et al., 2005; BULUN et al., 2012). Estes promotores regulam diferencialmente a expressão da aromatase nas gônadas, tecido adiposo, osso, cérebro, pele, fígado fetal e placenta. A propósito, o gene *CYP19A1* codifica a aromatase que é a principal enzima envolvida na biossíntese dos estrogênios, promovendo a aromatização de androgênios em estrogênios (BULUN et al., 2012; LAKE; HUDIS, 2002; SIMPSON; SANTEN, 2015; ZHAO et al., 2016).

A aromatase é expressa em uma ampla variedade de tecidos humanos, incluindo mama, ovário, testículo, placenta, osso, pele, cérebro e tecido adiposo.

No entanto a fonte de estrogênio varia marcadamente entre as mulheres na pré e pós-menopausa. Em mulheres pré-menopáusicas, a principal fonte de estrogênio é obtida pelos ovários sob influência da secreção de hormônios a partir do hipotálamo. Já na mulher pós-menopáusicas, caracterizada por insuficiência ovariana, o córtex suprarenal passa a ser a principal fonte de esteroides sexuais, produzidos na forma de andrógenos e estes são metabolizados, em tecidos periféricos, pela enzima aromatase para a formação de estrogênios conforme figura 1 (BULUN et al., 2009; DI NARDO; GILARDI, 2013; SIMPSON, 2003; SIMPSON et al., 2002; SIMPSON; SANTEN, 2015).



**Figura 1.** Representação esquemática da produção de estrogênios em mulheres na pré-menopausa e pós-menopausa.

Fonte: Elaboração dos autores.

A enzima aromatase é responsável pela conversão de androgênios em estrogênios, em particular, testosterona em estradiol, androstenediona em estrona e 16-alfa-hidroxitestosterona em estriol (DI NARDO; GILARDI, 2013). Esta desempenha um papel direto na biossíntese de estrogênio na mama e acredita-se que ela desempenha um papel importante na progressão do câncer mamário (GEISLER; LONNING, 2005; DI NARDO; GILARDI, 2013). Portanto, o gene *CYP19A1* e aromatase são peças fundamentais na manutenção de um ambiente



estrogênico na mulher pós-menopáusia. Por este motivo, a inibição da aromatase e consequentemente da síntese de estrogênios, se constitui em estratégia com base racional sólida no tratamento do câncer de mama hormônio dependente em mulheres na pós-menopausa, fazendo com que ocorra uma redução da proliferação celular no epitélio mamário (BARROS-OLIVEIRA et al., 2017a; BARROS-OLIVEIRA et al., 2017b; CLEMONS; GOSS, 2001; FREEDMAN; VERMA; CLEMONS, 2006).

### 7.3 EXPRESSÃO DO GENE *CYP19A1* NO CÂNCER DE MAMA

A expressão e regulação do gene *CYP19A1* envolve processos complexos e a expressão da aromatase específica do tecido depende de três fatores principais, (1) ativação de promotores específicos do tecido e transcrição dos primeiros exons relacionados ao promotor, (2) *splicing* alternativo e (3) disponibilidade de vários fatores de transcrição (BULUN et al., 2005; CUI et al., 2013).

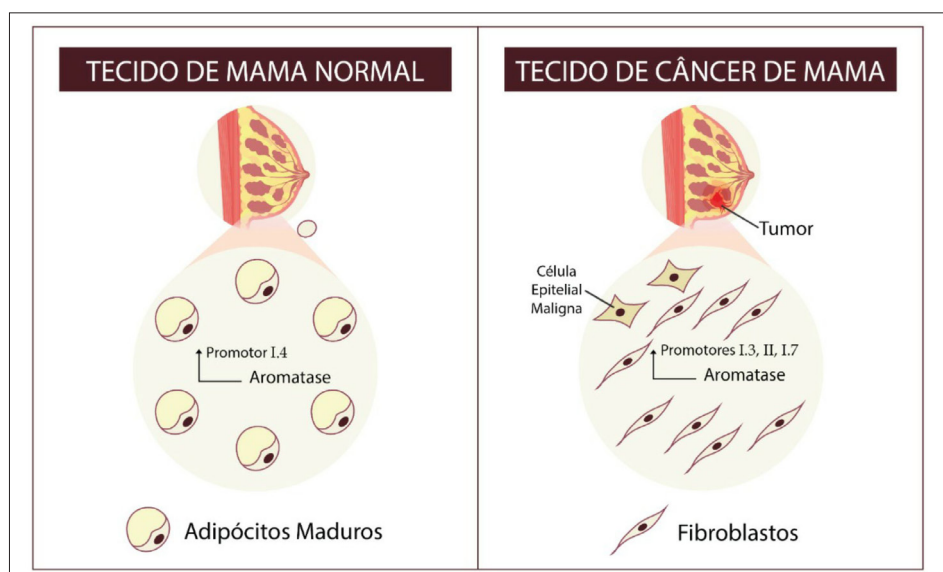
A expressão do gene *CYP19A1* é regulada pela ativação específica do tecido de vários promotores por meio de *splicing* alternativo. O mRNA do gene *CYP19A1* contém promotores específicos na região 5' - UTR, no entanto a região codificante e a proteína codificada, são idênticas. Portanto, a própria proteína aromatase é idêntica em todos os tipos de tecido, independentemente do promotor utilizado. Cada promotor é regulado por conjuntos distintos de hormônios, citocinas e vias de sinalização do segundo mensageiro, que recrutam diferentes fatores de transcrição para regular a expressão da aromatase específica do tecido e a biossíntese de estrogênio em condições fisiológicas ou patológicas, como no câncer de mama (KHAN et al., 2011; ZHAO et al., 2016).

Na mama, as células epiteliais benignas ou malignas estão em contato próximo com os capilares revestidos por células endoteliais, células estromais mesenquimais (fibroblastos adiposos indiferenciados também conhecidos como pré-adipócitos) e adipócitos maduros cheios de lipídios (BULUN et al., 1993). No tecido adiposo da mama, a maior parte da expressão da aromatase (80-90%) é encontrada nos fibroblastos adiposos e não nos adipócitos maduros (PRICE et al., 1992).

O tecido adiposo normal da mama mantém baixos níveis de expressão da aromatase principalmente via promotor distal I.4 e usa os promotores I.3 e II localizados na região proximal apenas minimamente. No câncer de mama, as células epiteliais malignas enriquecem a população de fibroblastos adiposos, secretando grandes quantidades de citocinas, como fator de necrose tumoral (TNF)  $\alpha$  e interleucina 11 (IL-11), para inibir a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros; assim, há a criação de uma camada densa de fibroblastos envolvendo células epiteliais malignas (MENG et al., 2001). Como resultado, a

quantidade total de transcrito do *CYP19A1* específica do promotor I.4 é aumentada no tecido do câncer de mama (HARADA, 1997).

As células epiteliais malignas da mama secretam prostaglandina E2 (PGE2) e outros fatores desconhecidos para causar a troca do promotor do *CYP19A1* de I.4 para os promotores I.3 e II mais potentes nos fibroblastos adiposos, levando ao aumento da produção de aromatase (DIAZ-CRUZ; SHAPIRO; BRUEGGEMEIER, 2005; ZHAO et al., 1996; ZHOU et al., 2001). Além dos fibroblastos adiposos da mama, os tumores da mama produzem altos níveis de aromatase, principalmente por meio do promotor I.3/ II (AGARWAL et al., 1996). Finalmente, as células endoteliais da mama, que proliferam no ambiente pró-angiogênico do câncer de mama, parecem ser um local significativo da expressão da aromatase através do promotor I.7 conforme figura 2 (SEBASTIAN et al., 2002).



**Figura 2.** Uso alternativo do promotor do *CYP19A1* para expressão da aromatase em tecidos mamários normais e malignos.

Fonte: Elaboração dos autores.

Assim, o câncer de mama utiliza quatro promotores do *CYP19A1* (II, I.3, I.7 e I.4) para direcionar a expressão da aromatase. A soma dos níveis de mRNA do *CYP19A1* decorrentes desses quatro promotores aumenta acentuadamente os níveis totais de mRNA do *CYP19A1* no câncer de mama, em comparação com o tecido mamário normal, que utiliza quase exclusivamente o promotor I.4. Assim, a interação parácrina entre células epiteliais malignas e células estromais adiposas afetam a diferenciação adipogênica e ativa um subconjunto de promotores do *CYP19A1* para impulsionar a produção local de estrogênio (BULUN et al., 2005).

A propósito, alguns estudos tem analisado a expressão do mRNA do *CYP19A1* em mulheres com câncer de mama, utilizando a Reação em Cadeia da Polimerase da Transcrição Reversa em Tempo Real (RT-qPCR). Esta é considerada um dos métodos padrão ouro para mensurar quantitativamente a expressão gênica, além de ser o mais difundido e confiável utilizado atualmente. No entanto, muitos destes estudos mostraram resultados controversos quanto aos níveis de expressão do mRNA do *CYP19A1* entre as mulheres com câncer de mama (AMATORI; PERSICO; FANELLI, 2017; BOLLET et al., 2009; FRIESENHENGST et al., 2018; EL HADI et al., 2017; LADEIRA; ISAAC; FERREIRA, 2011).

Friesenhengst et al. (2018) analisaram a expressão do mRNA do *CYP19A1* em tumores de câncer de mama e verificaram que mulheres na pós-menopausa com câncer de mama RE positivo com alta expressão do gene *CYP19A1* tiveram uma redução significativa da sobrevida livre de metástases (SLM), sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD) e foram associados com a recidiva local e incidência de metástases quando comparadas a pacientes na pré-menopausa com câncer de mama ER negativo.

Contudo, Miyoshi et al. (2003) verificaram a expressão do mRNA do *CYP19A1* em tumores de câncer de mama e não foi observada associação significativa entre os níveis de mRNA do *CYP19A1* e o status menopausal, tamanho tumor, status linfonodal, grau histológico e status RE. Além disso, não houve associação significativa entre o mRNA do *CYP19A1* e fatores prognósticos, tais como SLM, SG e SLD entre as pacientes.

Licznarska et al. (2008) ao analisarem a expressão do mRNA do *CYP19A1* em tumores de câncer de mama em mulheres pós-menopáusia, não encontraram qualquer associação entre o mRNA do *CYP19A1* e os fatores clinicopatológico, tais como, tamanho do tumor, status linfonodal, RE e RP. No entanto, nas pacientes RE positivo que apresentaram baixa ou alta expressão do *CYP19A1* foi observado um risco significativamente diminuído de recidiva ou morte relacionada ao câncer de mama e as pacientes RE e RP positivos apresentaram melhor SLM em comparação com RP negativo.

Girault et al. (2002) também avaliaram a expressão do mRNA do *CYP19A1* em tumores de câncer de mama e não observaram associação entre os níveis de mRNA do *CYP19A1* e a idade, grau histológico, status linfonodal e tamanho do tumor. Entretanto, as pacientes com altos níveis de mRNA do *CYP19A1* não apresentaram recidiva mais frequente ou tiveram SLM mais curta do que as pacientes que expressaram baixos níveis.

Brown et al. (2017) estudaram o efeito do status menopausal sobre a expressão de mRNA do *CYP19A1* em relação ao Índice de Massa Corporal (IMC), Inflamação do Tecido Adiposo Branco (ITAB) e marcadores sistêmicos de disfunção metabólica em mulheres submetidas à mastectomia para tratamento

ou prevenção do câncer de mama. Foram observados níveis significativamente maiores de mRNA do *CYP19A1* em todas as mulheres com IMC elevado, contudo o grupo de pós menopáusicas teve a maior expressão, assim como o ITAB e os marcadores leptina, hsCRP, adiponectina e colesterol estiveram também associados a aumento do mRNA do *CYP19A1* apenas no grupo pós menopausa.

Tüzüner et al. (2016) ao compararem a expressão de mRNA do *CYP19A1* em tecidos tumorais, peritumorais e tecidos mamários normais entre mulheres com e sem câncer de mama mostraram aumento significativo da expressão do mRNA do *CYP19A1* nos tecidos peritumorais além disso, os níveis também se mostraram elevados em pacientes com invasão axilar, histórico de câncer na família e paridade após os 30 anos. Por outro lado, foi mostrado baixos níveis de mRNA do *CYP19A1* em pacientes com menarca precoce, paridade nula e maiores de 50 anos. Não houve associação significativa entre fatores como IMC, tabagismo e consumo de álcool.

Bollet et al. (2009) analisaram a relação entre a recidiva locorregional, fatores clínicos patológicos e os níveis intratumorais da expressão gênica de 17 genes proliferativos, incluindo o gene *CYP19A1*, em mulheres com câncer de mama na pré menopausa. Nenhuma correlação foi observada entre a expressão do gene *CYP19A1* e fatores clínicos patológicos, tais como subtipo histológico, IMC e outros. Entretanto, níveis diminuídos da expressão foram significativamente associados a um aumento da taxa de recidiva locorregional nessas mulheres.

Savolainen-Peltonen et al. (2018) compararam os níveis de estrogênio do Tecido Adiposo (TA) e a expressão de genes relacionados ao metabolismo do estrogênio, incluindo o gene *CYP19A1*, em mulheres com e sem câncer de mama na pré-menopausa. As concentrações de estrona (E1) do TA correlacionaram-se positivamente com as expressões de mRNA do *CYP19A1*, assim como o IMC elevado. O Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e a fase folicular correlacionaram-se negativamente com a expressão de mRNA do *CYP19A1* nas mulheres com câncer de mama quando comparadas aos controles.

#### 7.4 POLIMORFISMO DO *CYP19A1* NO CÂNCER DE MAMA

A etiologia do câncer de mama é complexa e ainda pouco compreendida. Uma pequena proporção de casos de câncer de mama pode ser atribuída exclusivamente a razões genéticas, enquanto fatores de risco como idade, eventos reprodutivos (menarca, menopausa, gravidez, aleitamento materno), estrógenos, hormônios exógenos (terapia de reposição hormonal e contraceptivos orais), estilo de vida e exposição a agentes cancerígenos ambientais (poluição, álcool, dieta, obesidade), radiação ionizante, agentes quimiopreventivos, além de fatores genéticos, genes de susceptibilidade ao câncer de mama genes de alta penetração

(BRCA1, BRCA2, PTEN) e genes de baixa penetração (CYP450, GSH, UGTA) (JARA et al., 2017; ROJAS; TUCKEY, 2016; SUN et al., 2017). Um dos principais fatores de risco para o câncer de mama é o estrogênio e o seu principal efeito é o estímulo das células mamárias, o que aumenta a chance de erros durante as várias divisões do DNA e a possibilidade de mutações (DA SILVA et al., 2009). Além disso, foi identificado que os xenoestrogênios, que incluem pesticidas, tintas, contaminantes, plásticos e conservantes de alimentos, teriam efeitos semelhantes ao estrogênio e aumentaria o risco para o desenvolvimento do câncer de mama (JERRY et al., 2018).

Um dos principais tipos de variações genéticas é o polimorfismo de nucleotídeo único, que pode desempenhar um papel importante nos desenvolvimento de alergias. O polimorfismo de nucleotídeo único é uma alteração em apenas um nucleotídeo. Este tipo de polimorfismo causam diferentes fenótipos, podendo predispor a doenças. Polimorfismos de nucleotídeo único em genes envolvidos no metabolismo do estrogênio podem afetar os níveis circulantes de estrogênio e modular a suscetibilidade individual a agentes cancerígenos ambientais. A identificação dos polimorfismos genéticos das pacientes com câncer de mama pode levar a um reconhecimento mais eficaz dos mecanismos da doença, que é fundamental para o diagnóstico e tratamento adequado (BROCKMOLLER; TZVETKOV, 2008; DONG et al., 2010; LÓPEZ-CIMA et al., 2007). No metabolismo do estrogênio, o *CYP19A1* desempenha um papel principal na produção de 2-hidroxi-estrogênios, diversos polimorfismos de nucleotídeo único foram identificados no gene *CYP19A1*, que levam troca de aminoácidos importantes, podendo alterar assim a função da proteína Aromatase (GOLMOHAMMADZADEH et al., 2019).

## 7.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elucidação dos padrões genéticos do *CYP19A1* pode possibilitar a caracterização de mulheres com alto risco para câncer de mama, bem como o desenvolvimento de estratégias para o diagnóstico precoce, prognóstico e tratamento efetivo possibilitando uma melhor sobrevida e diminuição da progressão da doença, o *CYP19A1* está intimamente relacionado ao metabolismo do estrogênio, convertendo androgênios em estrogênios. A presença de polimorfismos do *CYP19A1* pode levar a atividade anormal da aromatase, assim como a modificação da expressão gênica da mesma.

## REFERÊNCIAS

- ABEJE, S; SEME, A; TIBELT, A. Factors associated with breast cancer screening awareness and practices of women in Addis Ababa, Ethiopia. **BMC Womens Health**, v.19, n.1, p.4, 2019.
- AGARWAL, V.R. et al. Use of alternative promoters to express the aromatase cytochrome P450 (CYP19) gene in breast adipose tissues of cancer-free and breast cancer patients. **J Clin Endocrinol Metab**, v.81, n.11, p.3843-3849, 1996.
- AMATORI, S; PERSICO, G; FANELLI, M. Real-time quantitative PCR array to study drug-induced changes of gene expression in tumor cell lines. **J Cancer Metastasis Treat**, n.3, p.90-9, 2017.
- BARROS-OLIVEIRA a, M.D.C. et al. Ki-67 antigen expression in the mammary epithelium of female rats in persistent estrus treated with anastrozole. **Gynecol Endocrinol**, v.33, n.5, p.359-362, 2017.
- BARROS-OLIVEIRA b, M.D.C. et al. Use of anastrozole in the chemoprevention and treatment of breast cancer: A literature review. **Rev Assoc Med Bras**, v.63, n.4, p.371-378, 2017.
- BOLLET, M.A. et al. Tumor aromatase expression as a prognostic factor for local control in young breast cancer patients after breast-conserving treatment. **Breast Cancer Res**, v.11, n.4, p.54, 2009.
- BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**, v.68, n.6, p.394-424, 2018.
- BROCKMOLLER, J; TZVETKOV, M.V. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. **Eur J Clin Pharmacol**, v.64, p.133-157, 2008.
- BROWN, K.A. et al. Menopause Is a Determinant of Breast Aromatase Expression and Its Associations With BMI, Inflammation, and Systemic Markers. **J Clin Endocrinol Metab**, v.102, n.5, p.1692-1701, 2017.
- BULUN, S. E. et al. A link between breast cancer and local estrogen biosynthesis suggested by quantification of breast adipose tissue aromatase cytochrome P450 transcripts using competitive polymerase chain reaction after reverse transcription. **J Clin Endocrinol Metab**, v.77, n.6, p.1622-1628, 1993.
- BULUN, S.E. et al. Aromatase, breast cancer and obesity: a complex interaction. **Trends Endocrinol Metab**, v.23, n.2, p.83-89, 2012.

BULUN, S.E. et al. Regulation of aromatase expression in breast cancer tissue. **Ann N Y Acad Sci**, n.1155, p.121-131, 2009.

BULUN, S.E. et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. **Pharmacol Rev**, v.57, n.3, p.359-83, 2005.

CAMPOS-VERDES, L.M. et al. Genetic polymorphism of calcium-sensing receptor in women with breast cancer. **Med Oncol**, v.35, n.3, p.23, 2018.

CHAN, H.J; PETROSSIAN, K; CHEN, S. Structural and functional characterization of aromatase, estrogen receptor, and their genes in endocrine-responsive and resistant breast cancer cells. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.161, p.73-83, 2016.

CLEMONS, M; GOSS, P. Estrogen and the risk of breast cancer. **N Engl J Med**, v.344, n.4, p.276-85, 2001.

COSTA-SILVA, D.R. et al. Insulin-like growth factor 1 gene polymorphism in women with breast cancer. **Med Oncol**, v.34, n.4, p.59, 2017.

CUI, J. et al. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. **Trends in Molecular Medicine**, v.19, n.3, p.197-209, 2013.

DA SILVA, B.B. et al. Evolution of Ki-67 antigen expression. In the zona reticularis of the adrenal cortex of female rats in persistent estrus. **Human Reproduction**. v.24, n.3, p. 705-709, 2009.

DI NARDO, G; GILARDI, G. Human aromatase: perspectives in biochemistry and biotechnology. **Biotechnol Appl Biochem**, v.60, n.1, p.92-101, 2013.

DIAZ-CRUZ, E.S; SHAPIRO, C.L; BRUEGGEMEIER, R.W. Cyclooxygenase inhibitors suppress aromatase expression and activity in breast cancer cells. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, n.5, p.2563-2570, 2005.

DONG, X. et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C polymorphisms and Gastric Cancer: A Meta-analysis. **Archives of Medical Research**. v.41, p.125-133, 2010.

EL HADI, H. et al. Development and evaluation of a novel RT-qPCR based test for the quantification of HER2 gene expression in breast cancer. **Gene**, n. 605, p.114-122, 2017.

FERLAY, J. et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **Int J Cancer**, v.144, n.8, p.1941-1953, 2019.

FREEDMA, O.C; VERMA, S; CLEMONS, M.J. Pre-menopausal breast cancer and aromatase inhibitors: Treating a new generation of women. **Breast Cancer Res Treat**, v.99, n.3, p.241-247, 2006.

FRIESENHENGST, A. et al. Elevated Aromatase (CYP19A1) Expression Is Associated with a Poor Survival of Patients with Estrogen Receptor Positive Breast Cancer. **Horm Cancer**, v.9, n.2, p.128-138, 2018.

GEISLER, J; LONNING, P.E. Aromatase inhibition: translation into a successful therapeutic approach. **Clin Cancer Res**, v.11, n.8, p. 2809-2821, 2005.

GERBER, B; FREUND, M; REIMER, T. Recurrent breast cancer: treatment strategies for maintaining and prolonging good quality of life. **Dtsch Arztebl Int**, v.107, n.6, p.85-91, 2010.

GIRAULT, I. et al. Real-time reverse transcription PCR assay of CYP19 expression: application to a well-defined series of post-menopausal breast carcinomas. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.82, n.4-5, p.323-32, 2002.

GHONCHEH, M; POURNAMDAR, Z; SALEHINIYA, H. Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. **Asian Pac J Cancer Prev**, v.17, n.3, p.43-6, 2016.

GOLMOHAMMADZADEH, G. et al. Polymorphisms in Phase I (CYP450) Genes CYP1A1 (rs4646421), CYP1B1 (rs1056836), CYP19A1 (rs749292) and CYP2C8 (rs1058930) and Their Relation to Risk of Breast Cancer: A Case-Control Study in Mazandaran Province in North of Iran. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v.7, n.15, p. 2488-2496, 2019.

HARADA, N. Aberrant expression of aromatase in breast cancer tissues. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.61, n.3-6, p.175-184, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019

JARA, L. et al. Mutations in BRCA1, BRCA2 and other breast and ovarian cancer susceptibility genes in Central and South American populations. **Biol Res**, v.50, n.1, p.35, 2017.

JEMAL, A. et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. **J Natl Cancer Inst**, v.100, n.23, p.1672-94, 2008.

JERRY, D.J. et al. Genetic variation in sensitivity to estrogens and breast cancer risk. **Mamm Genome**. v.29, n.1-2, p.24-37, 2018.



KHAN, S.I. et al. Potential utility of natural products as regulators of breast cancer-associated aromatase promoters. **Reprod Biol Endocrinol**, n.9, p.91, 2011.

LADEIRA, P.R.S; ISAAC, C; FERREIRA, M.C. Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real. **Rev Med**, v.90, n.1, p.47-51, 2011.

LAKE, D.E; HUDIS, C. Aromatase inhibitors in breast cancer: an update. **Cancer Control**, v.9, n.6, p.490-498, 2002.

LICZNERSKA, B.E et al. In situ levels of oestrogen producing enzymes and its prognostic significance in postmenopausal breast cancer patients. **Breast Cancer Res Treat**, v.112, n.1, p.15-23, 2008.

LÓPEZ-CIMA, M.F. et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. **BMC Cancer**. v.7, p.162, 2007.

MENG, L. et al. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 11 secreted by malignant breast epithelial cells inhibit adipocyte differentiation by selectively down-regulating CCAAT/enhancer binding protein alpha and peroxisome proliferator-activated receptor gamma: mechanism of desmoplastic reaction. **Cancer Res**, v.61, n.5, p.2250-2255, 2001.

MIYOSHI, Y. et al. High expression of steroid sulfatase mRNA predicts poor prognosis in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. **Clin Cancer Res**, v.9, n.6, p.2288-2293, 2003.

NAPOLI, N et al. Genetic polymorphism at Val80 (rs700518) of the CYP19A1 gene is associated with aromatase inhibitor associated bone loss in women with ER + breast cancer. **Bone**, v.55, n.2, p.309-314, 2013.

PRICE, T. et al. Determination of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid in human breast tissue by competitive polymerase chain reaction amplification. **J Clin Endocrinol Metab**, v.74, n.6, p.1247-1252, 1992.

ROJAS, K.; STUCKEY, A. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. **Clin Obstet Gynecol**. v.59, n.4, p.651-672, 2016.

SAVOLAINEN-PELTONEN, H. et al. Estrogen biosynthesis in breast adipose tissue during menstrual cycle in women with and without breast cancer. **Gynecol Endocrinol**, v.34, n.12, p.1039-1043, 2018.

SEBASTIAN, S. et al. Cloning and characterization of a novel endothelial promoter of the human CYP19 (aromatase P450) gene that is up-regulated in breast cancer tissue. **Mol Endocrinol**, v.16, n.10, p.2243-2254, 2002.

SIMPSON, E; SANTEN, R.J. Celebrating 75 years of oestradiol. **J Mol Endocrinol**, v.55, n.3, p.1-20, 2015.

SIMPSON, E.R. Sources of estrogen and their importance. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.86, n.3-5, p.225-230, 2003.

SIMPSON, E.R. et al. Aromatase - a brief overview. **Annu Rev Physiol**, v.64, n.1, p.93-127, 2002.

SUN, Y.S. et al. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. **Int J Biol Sci**. v.13, n.11, p.1387-1397, 2017.

TO, S.Q. et al. Transcriptional control of local estrogen formation by aromatase in the breast. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.145, p.179-86, 2015.

TÜZÜNER, M.B et al. Evaluation of Local CYP17A1 and CYP19A1 Expression Levels as Prognostic Factors in Postmenopausal Invasive Ductal Breast Cancer Cases. **Biochem Genet**, v.54, n.6, p.784-802, 2016.

VIEIRA, R.A.C.; FORMENTON, A.; BERTOLINI, S.R. Breast cancer screening in Brazil. Barriers related to the health system. **Rev Assoc Med Bras**, v.63, n.5, p.466-474, 2017.

YEO, S.K; GUAN, J.L. Breast Cancer: Multiple Subtypes within a Tumor? **Trends Cancer**, v.3, n.11, p.753-760, 2017.

ZHAO, H. et al. Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. **J Mol Endocrinol**, v.57, n.1, p.R19-33, 2016.

ZHAO, Y. et al. Estrogen biosynthesis proximal to a breast tumor is stimulated by PGE2 via cyclic AMP, leading to activation of promoter II of the CYP19 (aromatase) gene. **Endocrinology**, v.137, n.12, p.5739-5742, 1996.

ZHOU, J. et al. Malignant breast epithelial cells stimulate aromatase expression via promoter II in human adipose fibroblasts: an epithelial-stromal interaction in breast tumors mediated by CCAAT/enhancer binding protein beta. **Cancer Res**, v.61, n.5, p.2328-2334, 2001.

# Capítulo 8

## IGF-1 e o Câncer de Mama

*Danylo Rafael Costa Silva*  
*Maria da Conceição Barros Oliveira*

### 8.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia maligna que mais comumente afeta mulheres em todo mundo (VEIGA et al., 2019). Para o ano de 2018 foram estimados aproximadamente 2,1 milhões de casos novos da doença no mundo com uma taxa de mortalidade de 6,6% dentre as mortes por câncer, no Brasil estimam-se 66.280 casos novos de câncer de mama, para cada ano do triênio 2020-2022. Apesar do câncer de mama ser mais frequentemente diagnosticado em mulheres acima de cinquenta anos, sua incidência vem aumentando em mulheres com menos de 40 anos (BRAY et al., 2018; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2019; SCHAFFAR et al., 2019). As altas taxas de mortalidade pelo câncer de mama despertam interesse na seleção de pacientes de alto risco, bem como o desenvolvimento de estratégias para o melhor prognóstico e tratamento eficaz, aumentando a taxa de sobrevida e redução da progressão da doença (SHENG et al., 2019).

Aproximadamente 30% das pacientes que estão livres do câncer de mama após tratamentos iniciais, apresentam recidiva da doença durante o acompanhamento. O tempo de recorrência do câncer de mama varia consideravelmente, sendo influenciado por fatores prognósticos clássicos, como *status* dos receptores hormonais, alterações genéticas, hábitos de vida como sedentarismo, etilismo, tabagismo (COLLEONI et al., 2016). Portanto o câncer de mama é uma doença multifatorial, tendo como um dos principais fatores de risco as alterações genéticas (BARNARD; BOEKE; TAMIMI, 2015).

A propósito, um gene que chama a atenção para o risco de desenvolvimento e agressividade do câncer de mama é o do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 (*IGF-1*) que está localizado no cromossomo 12 do genoma humano e codifica a proteína de seu mesmo nome (DE SANTI et al., 2016). O eixo do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF) regula uma grande variedade de processos fisiológicos, incluindo a regulação do crescimento e desenvolvimento de tecidos humanos normais, promovendo a proliferação, diferenciação celular

e prevenindo a apoptose. Além das suas ações fisiológicas normais, as vias de sinalização do eixo IGF são importantes na cadeia bioquímica e molecular da carcinogênese (SIMPSON et al., 2017).

A proteína IGF-1 é encontrada na maioria dos tecidos humanos, incluindo o tecido mamário normal e neoplásico, sendo expressa principalmente no estroma e raramente nas células epiteliais, além disso, esta proteína é necessária para a morfogênese ductal, assim, o desenvolvimento mamário não ocorre na sua ausência (CHRISTOPOULOS; CORTHAY; KOUTSILIERIS, 2018; MACIAS; HINCK, 2012). Níveis alterados dos componentes da família do IGF podem levar a transformação maligna de células normais da mama, a manutenção do fenótipo maligno, ao aumento do potencial metastático e resistência a apoptose, assim, estas características fenotípicas mais agressivas podem piorar o prognóstico de pacientes com câncer de mama (SINGH et al., 2014).

A avaliação do gene *IGF-1* em pacientes com câncer de mama tem sido tipicamente estudada usando métodos qualitativos. Os resultados desses estudos são inconsistentes e inconclusivos em relação aos níveis de expressão do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) do *IGF-1* em mulheres com câncer de mama. Dados quantitativos sobre os níveis de mRNA dos componentes do sistema IGF são essenciais para investigar de modo plausível a relação entre a expressão do gene *IGF-1* e a susceptibilidade à recidiva do câncer mamário (BAHNASSY et al., 2015; BRAHMKHATRI; PRASANNA; ATREYA, 2015).

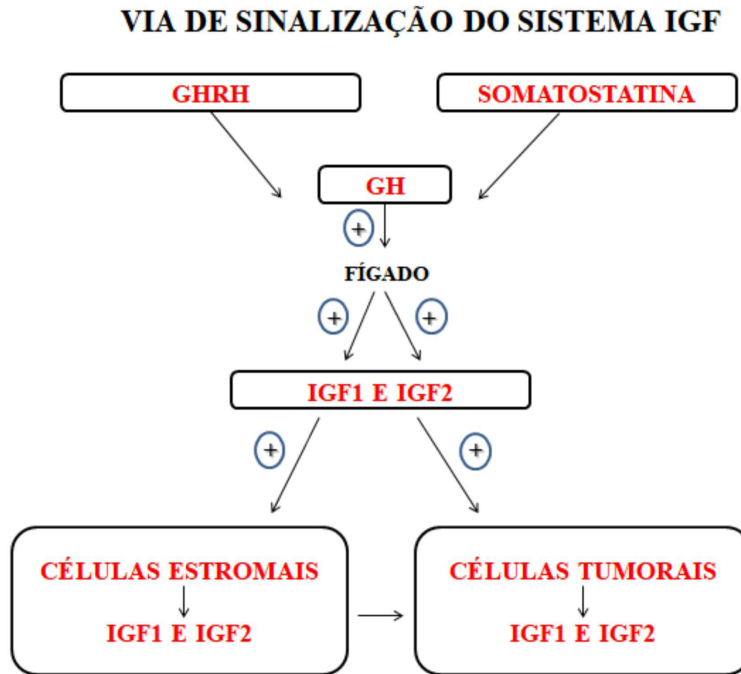
## 8.2 ESTRUTURA E MECANISMO DE AÇÃO DO GENE *IGF1*

O sistema IGF é constituído por dois hormônios peptídicos (IGF-1 e IGF-2), dois receptores de superfície celular (IGF-1R e IGF-2R) e pelo menos seis proteínas de ligação ao IGF (IGFBP 1-6) que controlam o crescimento normal e diferenciação da maioria dos órgãos (CEVENINI et al., 2018; BONEFELD et al., 2011). Os efeitos da proteína IGF-1 livre, que representa cerca de 1% das proteínas circulantes, são mediados pelo IGF-1R (BRAHMKHATRI; PRASANNA; ATREYA, 2015). A ligação da proteína IGF-1 ao receptor IGF-1R desencadeia duas grandes cascatas de sinalização que estimulam a proliferação, protegem contra a apoptose e promove a diferenciação celular (PHILIPPOU et al., 2014).

O IGF-1 é um polipeptídeo de cadeia simples que pertence à família de hormônios peptídicos e pode ser encontrado na maioria dos tecidos humanos, como nas glândulas mamárias normais e malignas, sendo expresso principalmente pelo estroma e raramente pelas células epiteliais (WAGNER et al., 2007; YAKAR et al., 2014). Em combinação com o hormônio de crescimento, insulina e hormônios sexuais, o IGF-1 é um regulador crucial do crescimento, diferenciação e apoptose celular. Tem atividades mitogênicas, e antiapoptóticas

marcantes em células cancerígenas e atua sinergicamente com o estrogênio para promover o crescimento do tumor (CLEVELAND et al., 2006; PHILIPPOU et al., 2014; GUNTER et al., 2009).

Na via sinalizadora do sistema IGF, o Hormônio Liberador de Hormônio do Crescimento (GHRH), produzido no hipotálamo, estimula a liberação do GH pela hipófise, enquanto a somatostatina inibe o GH. O hormônio de crescimento, por sua vez, estimula o fígado a produzir as proteínas IGF-1 e IGF-2, as quais estimulam as células estromais mamárias a produzir IGF-1 e IGF-2, que por ação parácrina estimulam as células tumorais mamárias a produzir IGF-2, que por ação autócrina estimula a proliferação das próprias células tumorais (Figura 1) (WINSTON; KAO; KIANG, 1994; MACIAS; HINCK, 2012).



**Figura 1.** Representação esquemática da via de sinalização do Sistema IGF.

Fonte: Elaboração dos autores.

O gene *IGF-1* está localizado no braço longo do cromossomo 12, banda q22-q24 do genoma humano, contém seis exons e cinco introns e possui comprimento total de 100 kilobases (PAVELIĆ et al., 2007; ROTWEIN et al., 2012; LELBACH et al., 2005). A expressão do gene *IGF-1* é controlada por modificações transcricionais e pós-traducionais. Portanto, diversos peptídeos de IGF-1 podem resultar do uso de diferentes promotores, *splicing* alternativo, processamento proteolítico e eventos de glicosilação (DENLEY et al., 2005).

Evidências epidemiológicas e experimentais tentaram esclarecer o papel do eixo do IGF-I no câncer de mama humano e mostraram resultados controversos. Enquanto os níveis aumentados da expressão do gene *IGF-I* foram associados a um melhor prognóstico no câncer de mama (MU et al., 2012) outros estudos sugeriram que níveis aumentados da expressão do gene *IGF-I* poderiam estar associados ao aumento da proliferação celular no câncer de mama (DE SANTI et al., 2016; DE OSTROVICH et al., 2008).

### 8.3 EXPRESSÃO DO GENE IGF1 NO CÂNCER DE MAMA

Alguns estudos mostraram uma possível associação entre o *IGF-I* e o risco de câncer em mulheres na pré-menopausa (RENEHAN et al., 2004; SHI et al., 2004; SUGUMAR et al., 2004). Por outro lado, um grande estudo prospectivo reunindo duas coortes suecas não encontrou associação entre os níveis circulantes de IGF-1 e o risco para câncer de mama, independentemente do status da menopausa (SHANMUGALINGAM et al., 2016; WEROHA; HALUSKA, 2012). Assim, os estudos disponíveis têm mostrado resultados controversos quanto aos níveis de expressão do IGF-1 nos tumores de mulheres com câncer de mama.

Mu et al. (2009) mostraram que a expressão elevada de mRNA do *IGF-I* foi associado a bons indicadores prognósticos, incluindo tumores pequenos, estágios mais iniciais da doença, tumores de baixo grau, tumores ER ou PR positivos, menor risco de recidiva da doença e morte. Estes resultados concordam com estudos anteriores que mostraram que os níveis elevados de mRNA do *IGF-I* foram associados a um melhor prognóstico da doença (HAFFNER et al., 2007; SHIN et al., 2007). No estágio inicial do câncer de mama existe uma quantidade maior de células estromais quando comparado ao estágio mais avançado e como as células estromais são a principal fonte de IGF-I na mama era de se esperar uma associação entre a expressão elevada de mRNA do *IGF-I* e os estágios mais iniciais da doença (EPPLER et al., 2002). Mu et al. (2009) sugerem que tumores de alto grau que invadem os tecidos adjacentes ou se disseminam para órgãos distantes podem se tornar menos dependentes da regulação do IGF-I e que tumores pequenos e de baixo grau respondam bem aos sinais do IGF-I.

Foi observado em outro estudo de Mu et al. (2012) que os níveis aumentados da expressão de mRNA do *IGF-I* foram associados aos subtipos luminal A e normal-like (tumores mais diferenciados) e níveis diminuídos da expressão do *IGF-I* foram associados aos subtipos basal, HER2 e luminal B (tumores poucos diferenciados). Estes resultados podem ser justificados pela fato dos altos níveis de *IGF1* serem suspeitos de ocorrerem apenas em células tumorais bem diferenciadas e expressão diminuída de *IGF-I* ocorrer apenas células tumorais pouco diferenciadas (EPPLER et al., 2002). Já os níveis

aumentados da expressão do mRNA do *IGF-1* associados com tumores menos agressivos e com melhor prognóstico (MU et al., 2012) parecem estar de acordo com achados de estudos anteriores (MU et al., 2009; SHIN et al., 2007) sugerindo que é possível que apenas tumores menos agressivos respondam bem aos sinais do fator de crescimento (MU et al., 2009).

Chong et al. (2006) avaliaram expressão gênica do IGF-1 em tecido de câncer de mama e em Tecido Normal Adjacente (TNA) usando a Reação em Cadeia da Polimerase da Transcrição Reversa em Tempo Real (RT-PCR) quantitativa, no entanto, nenhuma correlação foi observada entre os níveis de expressão de mRNA do *IGF-1* e fatores clínicos patológicos. Porém, os níveis aumentados da expressão do *IGF-1*, no tecido tumoral e TNA, foram associados a uma maior sobrevida livre de doença sugerindo que o *IGF-1* pode aumentar a diferenciação celular em certos tipos de câncer e isto estaria associado a cânceres menos agressivos e conseqüentemente de melhor prognóstico (REISS et al., 2000; VALENTINIS et al., 1999).

Já Raval e Trivedi (2016) estudaram os níveis de expressão de mRNA do *IGF-1* em tumores de mama e TNA de mulheres submetidas à mastectomia para tratamento do câncer de mama. Foram observados níveis significativamente menores de expressão do *IGF-1* nos tumores de mama de mulheres independente da idade, status menopausal, tamanho do tumor, status linfododal e estágio histológico quando comparados aos TNA. A baixa expressão do *IGF-1* foi associada apenas com tumores de mama nos estádios II, III e IV e sem permeação linfática. Além disso, uma correlação inversa significativa foi observada entre o estágio, tipo histológico e os níveis de expressão de mRNA do *IGF-1*.

Os achados do estudo de Christodoulou et al. (2018), em mulheres com câncer de mama HER2 positivo tratadas com trastuzumab, mostraram níveis elevados de expressão do mRNA do *IGF-1* nas mulheres com idade de diagnóstico maior que 50 anos e com ausência de metástases ósseas e níveis diminuídos nas pacientes com grau histológico III, metástases a distancia e metástases viscerais, o que pode ser justificados pelo fato de que o IGF-1 poderia estar envolvido no mecanismo de resistência ao tratamento com trastuzumab (DIERAS et al., 2007; LU et al., 2001), indicando que a comunicação cruzada do IGF-1/HER2 pode ocorrer via sinalização autócrina e/ou parácrina no câncer de mama (CHRISTOPOULOS; MSAOUEL; KOUTSILIERIS, 2015; HARTOG et al., 2012; DEARTH et al., 2011).

Em teoria, o *IGF-1* deveria estimular células de câncer de mama via IGF-1R, o que levaria a efeitos anti-apoptóticos e promoveria resistência ao tratamento com tamoxifeno (CHONG et al., 2011). No entanto o estudo de Chong et al. (2011) mostrou que níveis mais elevados da expressão do *IGF-1* estão associados a uma menor tendência das células de câncer de mama desenvolverem resistência

ao tamoxifeno. Como os tumores de câncer de mama resistentes ao tamoxifeno tornam-se independentes da estimulação de estrogênio e como o *IGF-1* tende a se correlacionar com o estrogênio, isso pode explicar a causa dos níveis do *IGF-1* estarem mais baixos no grupo resistente ao tamoxifeno (CHONG et al., 2011).

#### 8.4 POLIMORFISMO DO GENE *IGF1* NO CANCER DE MAMA

É cada vez mais evidente que a hereditariedade do câncer não está apenas relacionada com mutações germinativas graves, mas também com variações polimórficas na sequência do DNA. Para as variantes de baixas penetrância, os métodos de análise de ligação familiar não são adequados devido ao baixo impacto dos genes no fenótipo. Em vez disso, é mais eficiente realizar estudos de associação, que se baseiam na hipótese de que, se um fator contribui para um risco de uma doença esse deveria ser encontrado com maior frequência na população dos indivíduos afetados do que entre os controles não afetados (WAGNER; HEMMINKI; FÖRSTI, 2007).

A propósito, um importante exemplo de variações genéticas são os polimorfismos. Estes podem afetar a expressão gênica e, portanto, ocasionar alterações funcionais do produto proteico do gene. Os polimorfismos são frequentemente encontrados na sequência de DNA e ocorrem quando, para um mesmo locus gênico, existe um ou mais alelos, sendo que a frequência do alelo mais raro, ou seja, de menor frequência, deve ser maior que 1% na população para definir-se como polimorfismo (DRAZEN et al., 1999; LÓPEZ- CIMA et al., 2007).

Os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs), do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*, ocorrem quando há troca de apenas um nucleotídeo no locus gênico, os SNPs são abundantes, estáveis e amplamente distribuídos pelo genoma humano, cerca de 12.000.000 já foram descritos (BROCKMOLLER; TZVETKOV, 2008). Alguns estudos de associação de SNPs em diferentes genes foram e estão sendo realizados, sendo que um grande número destes foi identificado como preditor para o risco de desenvolvimento de câncer (ULRICH; ROBIEN; MCLEOD, 2003; DONG et al., 2010). Portanto, polimorfismos do tipo SNP podem ser considerados biomarcadores para a suscetibilidade a diversos tipos de câncer (BROCKMOLLER; TZVETKOV, 2008).

Os polimorfismos ocorrem com uma frequência de aproximadamente 1 em cada 1.000 pares de base (pb), onde o principal é o SNP, mas também há deleções, inserções ou duplicações de um ou mais nucleotídeos. Os SNPs podem ser classificados como codificante e não codificante, dependendo do local do gene onde eles ocorrem. Os polimorfismos podem ter consequências sobre o fenótipo, alterando a estrutura da proteína, assim como reduzindo ou elevando



sua expressão e, por conseguinte elevando os seus níveis plasmáticos (TEMPFER et al., 2006).

Os níveis circulantes de IGF-1 parecem desempenhar um papel significativo como fator de risco para o surgimento e desenvolvimento de tumores mamários, pois estudos *in vivo* sugerem que a progressão do câncer é influenciada por genes que codificam as moléculas de sinalização do eixo GH-IGF-1 (VOTTERO; GUZZETTI; LOCHE, 2013). O sistema do *IGF-1* tem se mostrado como possível promotor da transformação maligna de células normais da mama, da manutenção do fenótipo maligno, do aumento do potencial metastático, da resistência à apoptose e estas características fenotípicas mais agressivas podem levar a um pior prognóstico para as pacientes com câncer de mama com atividade do IGF-1 aumentada (CHONG et al., 2007).

O destino de milhões de células com DNA danificado é determinado a cada hora e uma modesta influência do nível de IGF-1 pode levar a uma maior probabilidade de sobrevivência celular, portanto um maior risco para o desenvolvimento do câncer. (BRAHMKJATRI; PRASANNA; ATREYA, 2015). A propósito, o nível plasmático de IGF-1 pode ser utilizado como um biomarcador, permitindo a avaliação do risco de câncer de mama na população geral ou em grupos de pacientes com maior risco de desenvolver a doença mais precocemente, tais como os portadores das mutações BRCA1 e BRCA2 e pacientes sob tratamento com estrogênio exógeno (CHONG et al., 2007). Essas observações epidemiológicas poderiam ter grandes implicações para a avaliação do risco e prevenção do câncer, todavia tais associações parecem ser superestimadas (BRUCHIM, ATTIAS, WERNER, 2009).

Hankinson et al. (1998) observaram uma associação significativa entre níveis elevados de IGF-1 e o risco de câncer de mama em mulheres na pré-menopausa. Uma vez que IGF-1 e o estrogênio agem sinergicamente para estimular o câncer de mama, sendo que IGF-1 parece ter pouco efeito sobre a proliferação celular na ausência de estrogênio. Por sua vez, Holdaway et al. (2003) observaram, tanto em mulheres na pré como na pós-menopausa, que os níveis de IGF-1 basais e uma semana após quimioterapia em câncer de mama avançado não apresentaram correlação significativa com a sobrevida destas pacientes.

Todavia, mais recentemente algumas variantes polimórficas (SNP), localizadas no gene *IGF-1*, tais como rs1520220 e rs6220, foram associadas com os níveis circulantes do fator de crescimento insulina símile tipo 1 e também com a densidade mamográfica (TAMIMI et al., 2007; DIORIO et al., 2008).

Verheus et al. (2008) estudaram a densidade mamográfica em mulheres holandesas, que reflete a proporção da mama ocupada por tecido epitelial e estromal e que está fortemente associada com o risco de câncer de mama e mostraram o aumento da densidade mamária e maior risco para câncer de mama

na presença de alguns genótipos de variantes polimórficas do gene *IGF-1*, especialmente a rs6220 (A>G) e a rs7136446 (T>C), sendo os alelos maiores, A e T normais, enquanto os genótipos GG e CC mostraram-se associados a uma elevação dos níveis séricos de IGF-1 e a um maior risco para câncer de mama (VERHEUS et al., 2008).

Contudo, a associação do aumento nos níveis plasmáticos de IGF-1 com o aumento de risco para câncer de mama parece diferir de acordo com a etnia da população (KING; WONG, 2012). Todavia, Al-Zahrani et al. (2006) estudaram a associação entre o SNP rs6220 do IGF-1 com níveis circulantes de IGF-1 em um estudo caso-controle de câncer de mama em mulheres inglesas e não encontraram associação dos níveis séricos de IGF-1 com o câncer de mama.

## 8.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto níveis aumentados ou diminuídos da expressão gênica do *IGF-1* podem estar relacionados aos fatores clínicos patológicos da doença, DFS, OS e resistência ao tamoxifeno em mulheres com câncer de mama. No entanto, há uma escassez de estudos sobre o assunto, principalmente com amostras maiores, em mulheres latino-americanas e em mulheres com recidiva de câncer de mama. Portanto, a elucidação dos padrões de expressão gênica do *IGF-1* através de outros estudos pode possibilitar a caracterização de mulheres com alto risco para câncer de mama, bem como o desenvolvimento de estratégias para o prognóstico e tratamento efetivo, permitindo melhor sobrevida e redução da progressão da doença. Um crescente número de estudos apoia a associação entre o polimorfismo do IGF-1 e o risco para o câncer de mama. Entretanto foram observados resultados conflitantes que surgiram a partir de abordagens metodológicas diferentes, subtipos moleculares distintos estudados, diferenças genéticas entre diferentes populações e heterogeneidade do tumor.

## REFERÊNCIAS

- AL-ZAHRANI, A. et al. IGF1 and IGFBP3 tagging polymorphisms are associated with circulating levels of IGF1, IGFBP3 and risk of breast cancer. **Hum Mol Genet**, v.15, n.1, p.1-10, 2006.
- BAHNASSY, A. et al. Molecular biomarkers for prediction of response to treatment and survival in triple negative breast cancer patients from Egypt. **Exp Mol Pathol**. v.99, n.2, p.303-11, 2015.
- BARNARD, M.E; BOEKE, C.E; TAMIMI, R.M. Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. **Biochim Biophys Acta**. v.1856, n.1, p. 73-85, 2015.

BONEFELD, K; MØLLER, S. Insulin-like growth factor-I and the liver. **Liver Int.** v.31, n.7, p. 911-919, 2011.

BRAHMKHATRI, V.P; PRASANNA, C; ATREYA, H.S. Insulin-like growth factor system in cancer: novel targeted therapies. **Biomed Res Int.** v.2015, n.538019, p.1-24, 2015.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin.** v.68, n.6, p.394-424, 2018.

BROCKMÖLLER, J; TZVETKOV, M.V. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. **Eur J Clin Pharmacol.** v.64, p.133-157, 2008.

BRUCHIM, I; ATTIAS, Z; WERNER, H. Targeting the IGF1 axis in cancer proliferation. **Expert Opin Ther Targets.** v.13, n.10, p.1179-1192, 2009.

CEVENINI, A. et al. Molecular Signatures of the Insulin-like Growth Factor 1-mediated Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast, Lung and Gastric Cancers. **Int J Mol Sci.** v.19, n.8, p. 1-24, 2018.

CHONG, K. et al. Subramanian A, Sharma A, Mokbel K. Measuring IGF-1, ER- $\alpha$  and EGFR expression can predict tamoxifen-resistance in ER-positive breast cancer. **Anticancer Res.** v.31, n.1, p.23-32, 2011.

CHONG, Y.M. et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and its receptor mRNA levels in breast cancer and adjacent non-neoplastic tissue. **Anticancer Res.** v.26, n.1, p.167-73, 2006.

CHONG, Y.M. et al. The potential clinical applications of insulin-like growth factor-1 ligand in human breast cancer. **Anticancer Res.** v.27, n.3B, p.1617-1624, 2007.

CHRISTODOULOU, C. et al. Evaluation of the Insulin-like Growth Factor Receptor Pathway in Patients with Advanced Breast Cancer Treated with Trastuzumab. **Cancer Genomics Proteomics.** v.15, n.6, p.461-471, 2018.

CHRISTOPOULOS, P.F; MSAOUEL, P; KOUTSILIERIS, M. The role of the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer. **Mol Cancer.** v.14, n.43, p.1-14, 2015.

CHRISTOPOULOS, P.F; CORTHAY, A; KOUTSILIERIS, M. Aiming for the Insulin-like Growth Factor-1 system in breast cancer therapeutics. **Cancer Treat Rev.** v.63, p.79-95, 2018.

CLEVELAND, R.J. et al. IGF1 CA repeat polymorphisms, lifestyle factors and breast cancer risk in the Long Island Breast Cancer Study Project. **Carcinogenesis.** v.27, n.4, p.758-65, 2006.

COLLEONI, M. et al. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer during 24 years of follow-up: results from the international breast cancer study group trials I to V. **J Clin Oncol.** v.34, n.9, p.927-35, 2016.

DE OSTROVICH, K.K. et al. Paracrine overexpression of insulin-like growth factor-1 enhances mammary tumorigenesis in vivo. **Am J Pathol.** v.173, n.3, p.824-34, 2008.

DE SANTI, M. et al. Human IGF1 pro-forms induce breast cancer cell proliferation via the IGF1 receptor. **Cell Oncol (Dordr).** v. 39, n.2, p. 149-159, 2016.

DEARTH, R.K. et al. A moderate elevation of circulating levels of IGF-I does not alter ErbB2 induced mammary tumorigenesis. **BMC Cancer.** n.11, n.377, p.1-10 , 2011.

DENLEY, A. et al. Molecular interactions of the IGF system. **Cytokine Growth Factor Rev.** v.16, n.4-5, p.421-39, 2005.

DIERAS, V. et al. Trastuzumab (Herceptin) and breast cancer: mechanisms of resistance. **Bull Cancer.** v.94, n.3, p.259-66, 2007.

DIORIO, C. et al. Genetic polymorphisms involved in insulin-like growth factor (IGF) pathway in relation to mammographic breast density and IGF levels. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v.17, n.14, p.880-888, 2008.

DRAZEN, J.M. et al. Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. **Nat Genet.** v.22, n.2, p.168–170, 1999.

EPPLER, E. et al. IGF-I in human breast cancer: low differentiation stage is associated with decreased IGF-I content. **Eur J Endocrinol.** v.146, n.6, p.813-21, 2002.

GUNTER, M.J. et al. Insulin, insulin-like growth factor-I, and risk of breast cancer in postmenopausal women. **J Natl Cancer Inst.** v.101, n.1, p.48-60, 2009.

HAFFNER, M.C . et al. Favorable prognostic value of SOCS2 and IGF-I in breast cancer. **BMC Cancer.** v.7, n.136, p.1-9 , 2007.

HANKINSON, S.E. et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. **Lancet.** v.351, n.9113, p.1393-1396, 1998.

HARTOG, H. et al. Treatment of breast cancer cells by IGF1R tyrosine kinase inhibitor combined with conventional systemic drugs. **Anticancer Res.** v.32, n.4, p.1309-1318, 2012.

HOLDAWAY, I.M. et al. Serum insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 following chemotherapy for advanced breast cancer. **ANZ J Surg.** v.73, n.11, p.905-908, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA.  
**Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2019

KING, E.R; WONG, K.K. Insulin-like growth factor: current concepts and new developments in cancer therapy. **Recent Pat Anticancer Drug Discov.** v.7, n.1, p.14-30, 2012.

LELBACH, A; MUZES, G; FEHER, J. The insulin-like growth factor system: IGFs, IGF-binding proteins and IGFBP-proteases. **Acta Physiol Hung.** v.92, n.2, p.97-107, 2005.

LÓPEZ-CIMA, M.F. et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. **BMC Cancer.** v.7, p.162, 2007.

LU, Y. et al. Insulin-like growth factor-I receptor signaling and resistance to trastuzumab (Herceptin). **J Natl Cancer Inst.** v.93, n.24, p.1852-187, 2001.

MACIAS, H; HINCK L. Mammary gland development. **Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.** v.1, n.4, p.533-57, 2012.

MU, L. et al. Peptide concentrations and mRNA expression of IGF-I, IGF-II and IGFBP-3 in breast cancer and their associations with disease characteristics. **Breast Cancer Res Treat.** v.115, n.1, p.151-162, 2009.

MU, L. et al. Favorable outcome associated with an IGF-1 ligand signature in breast cancer. **Breast Cancer Res Treat.** v.133, n.1, p.321-331, 2012.

PAVELIĆ, J; MATIJEVIĆ, T; KNEZEVIĆ, J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family. **Indian J Med Res.** v.125, n.4, p.511-522, 2007.

PHILIPPOU, A. et al. The complexity of the IGF1 gene splicing, posttranslational modification and bioactivity. **Mol Med.** v.20, n.1, p.202-214, 2014.

RAVAL, A; TRIVEDI, S. Breast cancer: Role of IGF-1 and IGFBP-3 expression in prognostication. **Indian J Exp Biol.** v.54, n.10, p.619-629, 2016.

REISS, K. et al. IGF-I receptor signaling in a prostatic cancer cell line with a PTEN mutation. **Oncogene.** v.19, n.22, p.2687-2694, 2000.

RENEHAN, A. G et al. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. **Lancet.** v.363, p.1346-1353, 2004.

ROTWEIN, P. Mapping the growth hormone--Stat5b--IGF-I transcriptional circuit. **Trends Endocrinol Metab.** v.23, n.4, p.186-93, 2012.

SCHAFFAR, R. et al. A population-based cohort of young women diagnosed with breast cancer in Geneva, Switzerland. **PLoS One.** v.14, n.9, p. e0222136, 2019.

SHANMUGALINGAM, T. et al. Is there a role for IGF-1 in the development of second primary cancers?. **Cancer Med.** v.5, n.11, p. 3353-3367, 2016.

SHENG, Z. et al. An overview protocol of biomarkers for breast cancer detection. **Medicine.** v. 98, n.24, p. e16024. 2019.

SHI, R. et al. IGF-I and breast cancer: a meta-analysis. **Int. J. Cancer.** v.111, p.418–423, 2004.

SHIN, A. et al. Expression patterns of insulin-like growth factor 1 (IGF-I) and its receptor in mammary tissues and their associations with breast cancer survival. **Breast Cancer Res Treat.** v.105, n.1, p.55-61, 2007.

SIMPSON, A. et al. Insulin-like growth factor (igf) pathway targeting in cancer: role of the igf axis and opportunities for future combination studies. **Target Oncol.** v.12, n.5, p. 571-597, 2017.

SINGH, B. et al. Insulin-like growth factor-I inhibition with pasireotide decreases cell proliferation and increases apoptosis in pre-malignant lesions of the breast: a phase 1 proof of principle trial. **Breast Cancer Res.** v.16, n.6, p.463, 2014.

SUGUMAR, A. et al. Insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein 3 and the risk of premenopausal breast cancer: a meta-analysis of literature. **Int. J. Cancer.** v.111, p.293–297, 2004.

TAMIMI, R.M. et al. Common genetic variation in IGF1, IGFBP-1, and IGFBP-3 in relation to mammographic density: a cross-sectional study. **Breast Cancer Res.** v.9, n.1, 2007.

TEMPFER, C.B. et al. How valid is single nucleotide polymorphism (SNP) diagnosis for the individual risk assessment of breast cancer? **Gynecological Endocrinology.** v.22, n.3, p.155-159, 2006.

VALENTINIS, B. et al. Growth and differentiation signals by the insulin-like growth factor 1 receptor in hemopoietic cells are mediated through different pathways. **J Biol Chem.** v.274, n.18, p.12423-1230, 1999.

VEIGA, G.L.D. et al. The role of Survivin as a biomarker and potential prognostic factor for breast cancer. **Rev Assoc Med Bras.** v. 65, n. 6, p. 893-901, 2019.

VERHEUS, M. et al. Common genetic variation in the IGF-1 gene, serum IGF-I levels and breast density. **Breast Cancer Res Treat.** v.112, n.1, p.109-122, 2008.

VOTTERO, A; GUZZETTI, C; LOCHE, S. New aspects of the physiology of the GH-IGF-1 axis. **Endocr Dev.** v.24, p.96-105, 2013.

WAGNER, K; HEMMINKI, K; FÖRSTI, A. The GH1/IGF-1 axis polymorphisms and their impact on breast cancer development. **Breast Cancer Res Treat.** v.104, n.3, p.233-248, 2007.

WEROHA, S.J; HALUSKA, P. IGF System in Cancer. **Endocrinol Metab Clin North Am.** v.41, n.2, p. 335-350. 2012.

WINSTON, R; KAO, P.C; KIANG, D.T. Regulation of insulin-like growth factors by antiestrogen. **Breast Cancer Res Treat.** v.31, n.1, p.107-115, 1994.

YAKAR, S; ADAMO, M.L. Insulin-like growth factor 1 physiology: lessons from mouse models. **Endocrinol Metab Clin North Am.** v.41, n.2, p.231-47, 2012.

# Capítulo 9

## Metaloproteinases de Matriz 2/9 e o Câncer de Mama

*Luana Mota Martins*  
*João Paulo da Silva-Sampaio*  
*Karine Rodrigues Ferreira*  
*Juliane Macedo dos Santos*

### 9.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é uma patologia caracterizada pela proliferação desordenada das células mamárias, que ocasiona o surgimento de células anormais, resultando em tumoração. São aproximadamente 59.700 novos casos e 16.900 mortes registradas anualmente, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2018). Alguns dos principais fatores apontados para seu desenvolvimento são o processo de envelhecimento, genética, influência de reposição hormonal, uso de anticoncepcionais por períodos prolongados, menstruação precoce, menopausa tardia e fatores ambientais aos quais a mulher é exposta ao longo da vida (FRIEDENREICH et al., 2001; AHMAD, 2013).

A neoplasia mamária é o tipo mais comum de câncer, sendo a segunda causa de morte por doenças em países ocidentais, após os cânceres de pele não melanomas, a incidência é mais elevada nas regiões mais desenvolvidas do mundo em comparação com as regiões em desenvolvimento e subdesenvolvidas (AZAMBUJA, 2007; FERLAY et al., 2015; SMITH et al., 2013). Esta neoplasia tornou-se um evidente problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento, onde é esperado que, nas próximas décadas, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025 (INCA, 2016).

Devido alta prevalência e por ser a maior causa de mortalidade entre mulheres no mundo, houve um aumento na busca pela detecção precoce e por uma terapia direcionada no câncer de mama (ZANETTI et al., 2011). Por meio disso, novas estratégias terapêuticas e prognósticas estão sendo formuladas com o uso de biomarcadores de proteínas, como proliferação celular e apoptose, uma vez que sua utilização permite uma boa especificidade, a diferenciação entre os tecidos saudáveis e neoplásicos, sinalizam alterações clínicas do tumor ao tratamento e podem



direcionar modificações na terapia. Os Biomarcadores como metaloproteinases de matriz (MMPs), cujos principais representantes são MMP-2 e MMP-9, têm sido relacionados à patogênese do câncer de mama (MARTINS et al., 2019).

As MMPs são endopeptidases neutras, da família das proteinases que dependem de íons metálicos para exercer sua atividade catalítica. As gelatinases do tipo MMP-2 e MMP-9 têm sido estudadas no plasma e nos tecidos, demonstrando um possível papel como um biomarcador no prognóstico no carcinoma mamário, pois estas promovem a perda de adesão celular e atuam na degradação do colágeno tipo IV que compõe a lâmina basal, favorecendo a migração de células neoplásicas malignas (DUFFY et al., 2000; SHUMAN MOSS; JENSEN-TAUBMAN; STETLER-STEVENSON, 2012).

## 9.2 METALOPROTEINASE DE MATRIZ EXTRACELULAR

As MMP pertencem a uma família de enzimas que necessitam da presença do zinco para realizarem suas funções, são classificadas de acordo com seu domínio e organização estrutural (PEREIRA et al., 2006). Existem 28 MMPs conhecidas apresentando diversas semelhanças estruturais e funcionais, porém, apresentam especificidade de substrato diferentes e por isso são classificadas em grupos: colagenases, gelatinases, estromelisinases, matrilisinases, MMPs ligadas a membrana (Tabela 1) (COWAN et al., 2009; DELABIO-FERRAZ et al., 2010; LINDSEY, ZAMILPA, 2012).

**Tabela 1.** Especificação dos substratos das metaloproteinases da matriz.

GRUPO	MMP	PRINCIPAIS SUBSTRATOS DA MATRIZ EXTRACELULAR
Colagenase	MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18	Colágenos tipos I, II, III, VII, VIII, X e gelatinas
Gelatinases	MMP-2, MMP-9	Colágenos tipos IV, V, VII, X, gelatina, elastina e fibronectina
Estromelisinases	MMP-3, MMP-10, MMP-11, MMP-12	Colágenos tipos III, IV, IX e X, proteoglicanos, fibronectina, laminina, gelatinas e caseína
Matrilisinases	MMP-7, MMP-26	Colágeno tipo IV, proteoglicanos, fibronectina, laminina, proteoglicanos e V Ecaderina.
MMPS Tipo membrana	MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-25	Tenascina-c, fibronectina e laminina.

Fonte: Adaptada de Delabio-Ferraz et al., 2010.

As unidades de domínio estrutural determinam o agrupamento das proteinases, todas apresentam uma sequência sinalizadora N-terminal ou pré-domínio, sendo este sucedido por um domínio (pró-peptídico), responsável por manter a latência da enzima, até que ela seja removida ou modificada e por um domínio catalítico com um sítio de ligação do íon zinco. Dessa forma, as MMPs são secretadas na matriz extracelular em estado latente necessitando de ativação para exercer sua atividade proteolítica. Além disso, estas são constituídas por regiões de articulação e um domínio de hemopexina que determina seu substrato (CATHCART; PULKOSKI-GROSS; CAO, 2015; ROY; YANG; MOSES, 2009).

O grupo das gelatinases é constituído por dois componentes: gelatinases A (MMP-2) e gelatinases B (MMP-9) que são distinguidos dos outros pela presença de um domínio semelhante a fibronectina, que contém três fibronectina tipo II de repetição, aos quais os substratos de colágeno de gelatina e tipo IV se ligam a um domínio protéico com papel semelhante ao da proteína de adesão celular (CATHCART; PULKOSKI-GROSS; CAO, 2015; MURPHY et al., 1994; KUBOTA et al., 2000; STERNLICHT ; WERB, 2001). Estas enzimas são, portanto, capazes de clivar o colágeno IV, que é o principal constituinte da membrana basal, primeira barreira para a progressão de células epiteliais neoplásicas. Desta forma, as gelatinases desempenham papel importante nos processos de invasão tumoral e metástases (HANEMAAIJER et al., 2000; LEV et al., 2002; TSAI et al., 2003; ALA-AHO; KÄHÄRI, 2005).

As MMPs são produzidas por vários tipos de células, incluindo neutrófilos, macrófagos, queratinócitos, fibroblastos, algumas células sinoviais e por diversas células malignas, com a expressão gênica induzida por citocinas como a interleucina-1, fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de necrose tumoral e câncer celulares (NABESHIMA et al., 2004). As melatoproteínas atuam na degradação da membrana basal e na maioria dos componentes da matriz extracelular, como colágeno, laminina, fibronectina e elastina, que são barreiras naturais para a migração das células e invasão vascular. Além disto, interagem com as moléculas de adesão celular, como a laminina-5 e a e-caderina, alterando a adesão entre as células tumorais e facilitando o movimento destas através da matriz extracelular, contribuindo para metástase (JOBIM et al., 2008).

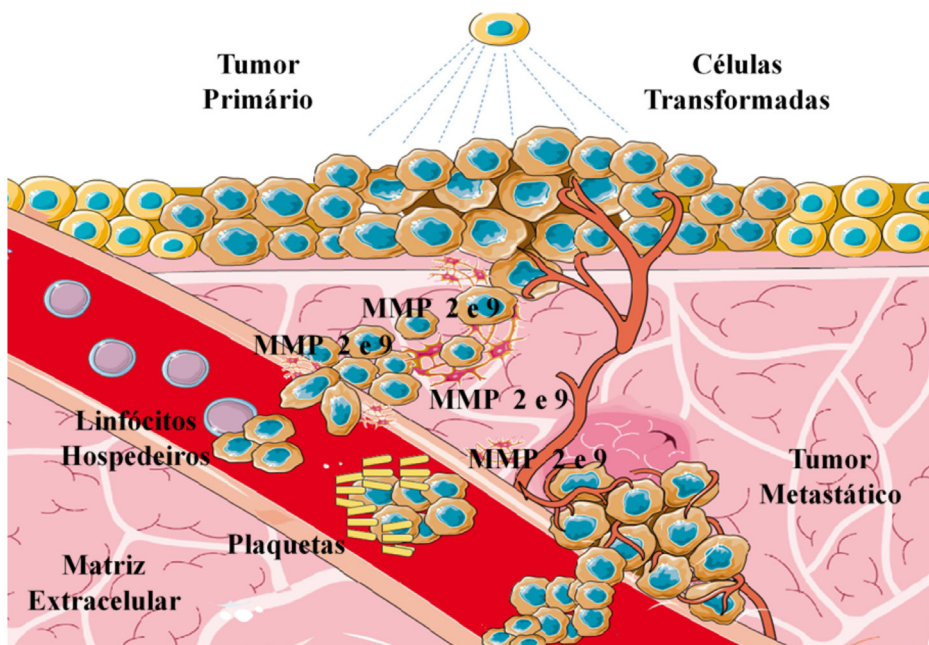
Em condições fisiológicas normais, há uma rígida regulação da secreção das MMP, as quais são sintetizadas e secretadas como pró-enzimas inativas e denominadas zimógenos, que posteriormente serão ativadas, no espaço extracelular por via proteolítica. Assim, a ativação enzimática requer a retirada do domínio pró-peptídeo por meio da degradação deste por outras proteases, tais como plasmina, ou por MT-MMPs (MMPs do tipo membrana). Essa regulação ocorre apenas em momentos específicos, nos quais existem processos multifásicos

de ativação dos zimógenos, além de haver vários inibidores sanguíneos e teciduais para monitorar a ação da proteinase. O controle da quantidade de enzima ativa é feito pelos inibidores teciduais das MMPs. A ruptura da homeostase entre MMP e esses inibidores podem resultar em várias patologias como artrites, retinopatia diabética e câncer (GUIMARÃES et al., 2010; PEREIRA et al., 2006; PERCHES et al., 2012).

Sobre este aspecto, o desequilíbrio dessas enzimas desempenha papel importante em diversos estágios do desenvolvimento do câncer de mama e nas atividades dependentes da ligação de zinco ao local catalítico, pois esse mineral aumenta a expressão das MMPs, para exercer sua função de proliferação celular e progressão tumoral (KAMBE, 2011; KLEIN; BISCHOFF, 2011). A função das MMPs durante a invasão neoplásica consiste na destruição dos componentes da matriz extracelular, a fim de melhorar a migração das células. A MMP-9 desempenha um papel indispensável na angiogênese do tumor, pois controla a biodisponibilidade do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que é um potente indutor da angiogênese. A MMP-9, juntamente com a MMP-2, ativa a sinalização do fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) para promover a invasão do tumor, angiogênese e metástase mamária (BENSON et al., 2013).

### 9.3 MECANISMO DE AÇÃO DAS MELATOPROTEINASES (MMP-2 E MMP-9) NO CÂNCER DE MAMA

As MMP-2 e MMP-9, pertencentes ao grupo das gelatinases, são responsáveis pela degradação dos elementos formadores da membrana basal e da matriz extracelular, como o colágeno. Essa proteólise é essencial à homeostase celular, porém, também é uma porta de entrada para a formação de novos vasos (angiogênese), que estabelecem tanto a nutrição para o tumor quanto a rota para que as células neoplásicas entrem na circulação e atinjam outros órgãos, favorecendo assim a expansão de células cancerosas, atuando, de forma direta e indireta sobre a progressão do tumor mamário (Figura 1) (HADLER-OLSEN et al., 2011; JOBIM et al., 2008; WOLF et al., 2007).



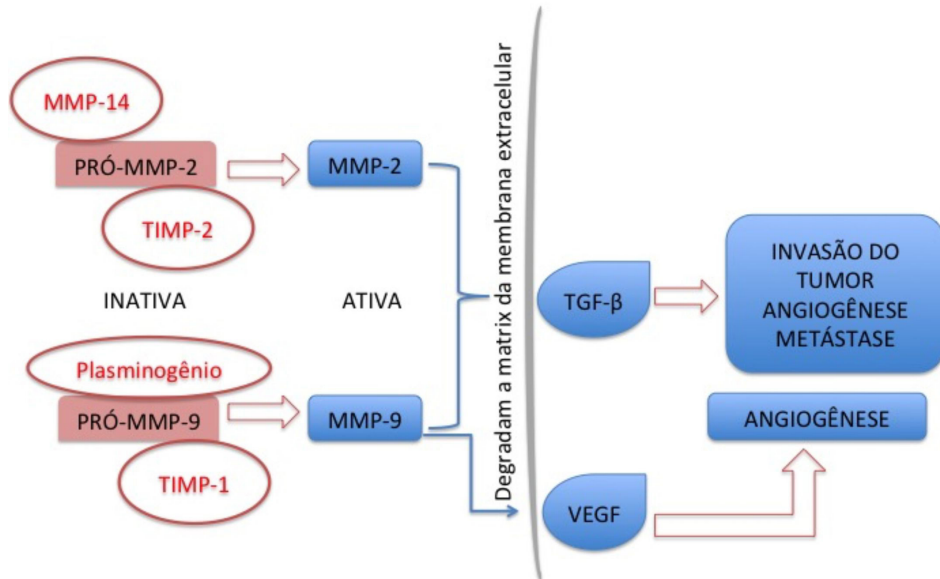
**Figura 1.** Mecanismo de ação das MMP-2 e MMP-9 no câncer mamário.

Fonte: Elaboração dos autores.

Sobre este aspecto, destaca-se também a atuação dos Inibidores Teciduais de Metaloproteínas de Matriz (TIMPs) que são um grupo composto por proteínas (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 e TIMP-4) que participam do rigoroso processo regulatório da atividade das metaloproteínas ao formar ligações com as MMPs promovendo complexos inibitórios ou participando da ativação de algumas delas. Permite assim, a presença de baixos níveis das metaloproteínas em tecidos saudáveis, mas também contribuem no processo de diminuição ou progressão do tumor mamário: a forma ativa da MMP-2 é obtida através de clivagem do domínio peptídico, por meio da ação da MMP-14 auxiliada pelo TIMP-2, enquanto a MMP-9 é ativada através da ação de plasminogênio e TIMP-1 (Figura 2) (HIDALGO, ECKHARDT, 2001; MASKOS, BODE, 2003; NAGASE, VISSE, MURPHY, 2006; KHOKHA, MURTHY, WEISS, 2013).

As células tumorais promovem um aumento seletivo da absorção de zinco, que por sua vez, favorece o aumento das concentrações desse mineral no tumor, parecendo levar a ativação das MMPs 2 e 9 (CURRAN, MURRAY, 2000; RUNDHAUG, 2005). Estudos observaram que ocorrem discrepâncias estatisticamente significativas nas concentrações dessas duas metaloproteínas entre mulheres com e sem câncer de mama, apresentando valores superiores no grupo que apresenta a doença, devido provavelmente a alterações ocorridas na

matriz tecidual da mama pelo processo de carcinogênese (HOLANDA et al., 2017; HUANG et al., 2015).



**Figura 2.** Mecanismo de ativação das MMP-2 e MMP-9.

Fonte: Elaboração dos autores.

Através de relatos que apontaram uma correlação entre a expressão aumentada das MMPs 2 e 9 e evolução do câncer mamário, Cupić et al. (2011) observaram uma maior expressividade de MMP-9 em tumores primários que retornaram após um período de 24 meses a partir do diagnóstico inicial, enquanto os valores foram menores em casos em tumores que retornaram antes desse período. Essas informações foram confirmadas por autores que apontam associação entre a MMP-9 e maiores chances de malignidade tumoral e pior sobrevida global, demonstrando grande potencial invasivo e metastático quando sua atividade se encontra elevada (TAURO et al., 2017; WEBB et al., 2017; ZENG et al., 2013).

A indicação da MMP-9 como marcador da progressão da neoplasia mamária ocorre por seus níveis plasmáticos encontrarem-se elevados quando comparados a tumores benignos, assim como uma associação entre aumento de sua expressão imunohistoquímica e presença de metástases, demonstrando ser um biomarcador diagnóstico importante como alvo terapêutico de fármacos contra o câncer de mama, devido a sua relação com a tumorigênese, através de modulação da proliferação celular, apoptose, invasão tumoral e processo metastático (RAHIMI, YARI, RAHIMI, 2015; MERDAD et al., 2014; WU et al., 2014).

Ocorrem ainda, descrições que apontaram uma maior marcação plasmática de MMP-2 em casos malignos quando comparados aos benignos, e embora alguns estudos não tenham apontado resultados significativos a respeito da utilização da MMP-2 como um biomarcador apoiam a realização de maior experimentos sobre o assunto devido ao seu papel biológico que ela apresenta no processo invasivo e metastático (ARONER et al., 2015; XU et al., 2013).

No estudo de Somiari et al. (2006) avaliaram as concentrações plasmáticas e atividade das metaloproteinase 2 e 9 em pacientes com doença benigna da mama, com câncer de mama e com risco elevado para desenvolver câncer de mama. Concluíram que as concentrações plasmáticas de MMP-2 foram significativamente menores no grupo com neoplasia benigna do que aqueles com risco de desenvolver câncer de mama e do que aqueles com câncer de mama. Contudo, as concentrações plasmáticas de MMP-9 não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

## REFERÊNCIAS

AHMAD, A. Pathways to breast cancer recurrence. **ISRN oncology**, 2013

ALA-AHO, R., KÄHÄRI, V.M. Collagenases in cancer. **Biochimie**.v.87, n.3-4: p.273-286, 2005.

ARONER, S. A. et al. Plasma matrix metalloproteinase 2 levels and breast cancer risk. **Cancer epidemiology**, v. 39, n. 3, p. 321-327, 2015.

AZAMBUJA, E. Marcadores prognósticos e preditivos e sua importância na individualização do tratamento de pacientes com câncer de mama, 2007.

BENSON C.S. et al. Expressão de metaloproteinases da matriz em tecidos de câncer de mama humano. **Dis Markers**, v.34 n. 6, p. 395-405, 2013.

CATHCART, J.; PULKOSKI-GROSS, A.; CAO, J. Targeting matrix metalloproteinases in cancer: Bringing new life to old ideas. **Genes& Diseases** v.2: p.26-34, 2015.

CUPIĆ, D. F. et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 in primary and recurrent breast carcinomas. **Coll Antropol.**; v. 35, n. 2, p.7-10, 2011.

COWAN, R. W. et al. Collagenase expression and activity in the stromal cells from giant cell tumour of bone. **Bone**, v. 44, n. 5, p. 865-871, 2009.

DELABIO-FERRAZ, E. et al. Rana catesbeiana, pólvora e modulação supramolecular cicatrização intestinal e prognóstico no câncer de cólon: uma mesma origem biológica para o insucesso?. **Rev bras Coloproct**, v. 30, n. 2, 2010.

DUFFY, M. J. et al. Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. **Breast cancer research**, v. 2, n. 4, p. 252, 2000.

EISENBERG, A. L. A.; KOIFMAN, S. Câncer de mama: marcadores tumorais. **Rev Bras Cancerol**, v. 47, n. 4, p. 377-88, 2001.

FERLAY J. et al. Forman D and Bray F: Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int J Cancer**; 136: p.359-386, 2015.

FRIEDENREICH, C. M.; BRYANT, H. E.; COURNEYA, K. S. Case-control study of lifetime physical activity and breast cancer risk. **American journal of epidemiology**, v. 154, n. 4, p. 336-347, 2001.

GUIMARÃES, D. A. et al. Inibição de metaloproteinases da matriz extracelular: uma possível estratégia terapêutica na hipertensão arterial? **Rev Bras Hipertens** v. 17, n. 4, p. 226-230, 2010.

GUSTERSON, B. A. et al. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 7, n. 4, p. 143, 2005.

HADLER-OLSEN, E. et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. **FEBS J.**, v.278, n.1: p.28-45, 2011.

HANEMAAIJER R. et al. Increased gelatinase-A and gelatinase-B activities in malignant vs. benign breast tumors. **Int J Cancer**. v. 86, n.2: p.204-7, 2000.

HIDALGO M.; ECKHARDT S. G. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 93, n. 3, p. 178-193, 2001.

HOLANDA, A.O.N. et al. Influência da zincemia sobre as concentrações das metaloproteinase 2 e 9 em mulheres com câncer de mama. **REAS** v. 9, n. 1, p. 1003-1010, 2017.

HUANG B.; WARNER M.; GUSTAFSSON J.. Estrogen receptors in breast carcinogenesis and endocrine therapy. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 418, p. 240-244, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Câncer de mama**. Tipos de câncer. [Brasília, DF]: Instituto Nacional do Câncer, 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>

JOBIM, F.C. et al. Expressão da MMP-9 e do VEGF no câncer de mama: correlação com outros indicadores de prognóstico. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** v. 30, n.6: p.287-293, 2008.

KAMBE T. Uma visão geral de uma ampla gama de funções dos transportadores de zinco ZnT e Zip na via secretora. **Biosci Biotechnol. Biochem**, v. 75 , n. 6, 2011.

KHOKHA R.; MURTHY A.; WEISS A. Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 9, p. 649-665, 2013.

KLEIN T, BISCHOFF R. Fisiologia e fisiopatologia das metaloproteases da matriz. **Aminoácidos**. V. 41 , n.2 ,p .90- 271, 2011.

KUBOTA, S. et al. Effects of para-nonylphenol on 92 kDa gelatinase secretion by human peripheral lymphocytes and U937 cells in vitro. **Biochem Biophys Res Commun**. v. 279, n.1: p.270-4, 2000.

LEV, S. et al. Prevention of tumor spread by matrix metalloproteinase-9 inhibition: old drugs, new concept. **Eur J Intern Med**. v.13, n. 2: p.101-103, 2002.

LINDSEY, M. L.; ZAMILPA, R. Temporal and spatial expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases following myocardial infarction. **Cardiovascular therapeutics**, v. 30, n. 1, p. 31-41, 2012.

MARTINS, L.M. Expression of matrix metalloproteinase 2 and 9 in breast cancer and breast fibroadenoma: a randomized, double-blind study. **Oncotarget**, v.10, n.64, p. 6879-6884, 2019.

MASKOS, KLAUS; BODE, WOLFRAM. Structural basis of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. **Molecular biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 241-266, 2003.

NABESHIMA K. et al. Emmpirin, a cell surface inducer of matrix metalloproteinases (MMPs), is expressed in T-cell lymphomas. **Journal of Pathology**, p. 341–351, 2004.

NAGASE, H.; VISSE, R.; MURPHY, G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. **Cardiovascular research**, v. 69, n. 3, p. 562-573, 2006.

PARE R. et al. Breast cancer precursors: diagnostic issues and current understanding on their pathogenesis. **Pathology**, v. 45, n. 3, p. 209-213, 2013.

PERCHES, C. S. et al. Matriz metaloproteinasas na reparação corneal: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, p. 480-489, 2012.

PEREIRA, A. C et al. o papel das mmp-2 e -9 no desenvolvimento do carcinoma epidermóide. **rev brasileira de cancerologia**, v. 3, n. 52, p. 257-262, 2006.

PEROU, C. M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. **nature**, v. 406, n. 6797, p. 747, 2000.



ROY R.; YANG J.; MOSES M.A. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 31, p. 5287-97, 2009.

RUDEK M.A.; VENITZ J.; FIGG W.D. Matrix metalloproteinase inhibitors: do they have a place in anticancer therapy. **Pharmacotherapy**, v.22, n. 6, 2002.

RUNDHAUG, J.E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. **J Cell Mol Med** v. 9, n. 2, p. 267-85, 2005.

SHUMAN M. L.A. et al. Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis. *Am J. Pathol*, v.181, n. 6, p.1895-1899, 2012.

SMITH, R.A. et al. Cancer screening in the United States, 2013: a review of current American Cancer Society guidelines, current issues in cancer screening, and new guidance on cervical cancer screening and lung cancer screening. **Cancer J Clin**.v.63,n.2: p.88-105, 2013.

SOMIARI, S.B. et al. Plasma concentration and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in patients with breast disease, breast cancer and at risk of developing breast cancer. **Cancer Lett**. 233(1): 98–107, 2006.

STERNLICHT, M.D ; WERB, Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. **Rev Cell Dev Biol**. p. 463–516, 2001.

TAURO, M. et al. Bone-seeking matrix metalloproteinase-2 inhibitors prevent bone metastatic breast cancer growth. **Molecular cancer therapeutics**, v. 16, n. 3, p. 494-505, 2017.

TSAI, C.H. et al. Matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 expression in human oral squamous cell carcinoma and the effect of protein kinase C inhibitors: preliminary observations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod**.v.95, n.6: p.710-6, 2003.

WEBB, A. H. et al. Inhibition of MMP-2 and MMP-9 decreases cellular migration, and angiogenesis in in vitro models of retinoblastoma. **BMC cancer**, v. 17, n. 1, p. 434, 2017.

WOLF, K. et al. Multi-step pericellular proteolysis controls the transition from individual to collective cancer cell invasion. **Nature cell biology**, v. 9, n. 8, p. 893-904, 2007.

XU, N. et al. Clinical Study of Tumor Angiogenesis and Perfusion Imaging Using Multi-slice Spiral Computed Tomography for Breast Cancer. **Asian Pacific J Cancer Prev** v.14, n.1, p.429-433, 2013.

ZANETTI, J. S.; OLIVEIRA, L. E.; RIBEIRO-SILVA, A. Câncer de mama: de perfis moleculares a células tronco. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 9, n. 1, p. 277-292, 2011.

# Capítulo 10

## Metalotioneína e o Câncer de Mama

*Fabiane Araújo Sampaio*

*Edinara Costa Sousa*

### 10.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o tumor maligno mais comum entre as mulheres no mundo todo, entretanto, apesar do progresso considerável no diagnóstico e terapia, ainda constitui um enorme problema de saúde pública. Nos últimos anos, muitos estudos têm procurado novos modelos preditivos e marcadores prognósticos (DAI et al., 2016; INCA, 2018).

Entre os novos biomarcadores investigados para o diagnóstico e progresso dessa neoplasia é possível destacar as metalotioneínas, proteínas intracelulares de baixo peso molecular (6-7 kDa), caracterizadas por altos níveis de resíduos de cisteína e baixo teor de aminoácidos aromáticos (DZIEGIEL et al., 2016). A propósito, a utilização da expressão da Metalotioneína (MT) na prática clínica pode contribuir para melhorar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, pois a doença é comumente diagnosticada em estágios avançados (OSTRAKHOVITCH et al., 2006).

A hiperexpressão da metalotioneína tem sido associada a diversos processos intracelulares, incluindo seu papel na proliferação, diferenciação, quimiorresistência e principalmente sua ação anti-apoptótica (GOMULKIEWICZ et al., 2010), pois sua presença, em particular a isoforma metalotioneína-1 (MT-1) participa da compartimentalização do mineral zinco (BELLAZO et al., 2018; BIZÓN et al., 2017). Na deficiência desse mineral, a metalotioneína sequestra zinco de moléculas da p53 no núcleo celular para o citoplasma, induzindo desequilíbrio no domínio de ligação e conformação do DNA, com comprometimento da função apoptótica da p53 (OSTRAKHOVITCH et al., 2006).

Durante o processo oncogênico, ocorre algumas mudanças no organismo incluindo no ritmo do metabolismo, principalmente devido a fatores externos. De acordo com alguns estudos, a metalotioneína pode ser usado como um biomarcador precoce de câncer, pois há um aumento na concentração dessa proteína nas células cancerígenas no estágio inicial do desenvolvimento do tumor (FLORIANCZYK et al., 2011).

## 10.2 ESTRUTURA DA METALOTIONEÍNA E MECANISMO DE AÇÃO NO CÂNCER DE MAMA

As metalotioneínas (MTs) referem-se a um grupo de proteínas intracelulares, ricas em cisteína, associadas a proliferação celular, além disso, está presente em várias células como os hepatócitos (SHARKAWY). São compostas pelas classes, MT-1, MT-2, MT-3 e MT-4, com diferentes isoformas dentro de cada classe, enquanto a proteína MT-2 é codificada apenas por um gene MT-2A, a proteína MT-1 possui diversos subtipos codificados por um conjunto de genes MT-1 (MT-1A, MT-1B, MT-1E, MT-1F, MT-1G, MT-1H e MT-1X), em humanos os diferentes genes de MT desempenham diversas funções como diferenciação celular, além de possuir papel crucial no crescimento celular normal e neoplásico (THIRUMOORTHY et al., 2007).

As isoformas MT-1 e MT-2 estão presentes em quase todos os tecidos e são relacionadas à proliferação do câncer de mama e ao metabolismo do zinco, enquanto a MT-3 está presente no tecido cerebral e nas células epiteliais da próstata e do rim e a isoforma MT-4 é limitada ao epitélio da pele e seções do trato gastrointestinal superior (BIZÓN et al., 2017). A expressão da metalotioneína usando anticorpos contra o epitopo E9, sua imunopositividade foi observada em células mioepiteliais e raramente, nas células epiteliais, corando núcleo e citoplasma das células (GUMULEC et al., 2014).

A propósito, ocorrem mudanças na localização das isoformas MT-1 e MT-2 à medida que o ciclo celular progride. Nas fases G0 e G1 estão inicialmente localizados no citoplasma e nas fases S e G2 são expressas no núcleo, ou seja, o ciclo da célula cancerosa apresenta forte relação com a expressão da metalotioneína e os mecanismos da carcinogênese (BARNES et al., 2000; JIN et al., 2001). No estudo de Nagel e Valle (1995) foi demonstrado que a expressão da metalotioneína aumentou de 2 a 3 vezes mais nos compartimentos celulares em proliferação quando comparadas a células com crescimento inibido e o pico da expressão ocorreram durante as fases de transição tardias G1 e G1 / S.

A superexpressão da metalotioneína em células de carcinoma apresenta efeito anti-apoptótico provindo da ativação do fator nuclear Kappa B (NFkB) e estão relacionados a uma interação específica com a subunidade p50, sendo que MT pode ser requerida para estabilizar a ligação do NFkB ao DNA e desse modo realizar seus efeitos antiapoptóticos (ABDEL-MAGEED; AGRAWAL, 1998). No estudo de Jin et al. (2004) foi relatado que as isoformas MT-1 e MT-2 interagem com a NFkB através do TNF- $\alpha$  também relacionado à proliferação celular e redução de apoptose.

Outro mecanismo pelo qual a metalotioneína inibe a apoptose é por meio da indução de genes anti-apoptóticos, especialmente Bcl-2 (Linfoma de células

B2) e o gene regulador da codificação fator de transcrição c-myc, com inibição simultânea da atividade protéica pro-apoptótica, especialmente caspase 1 e 3, exibindo uma ação supressora contra tumor (CHIMIENI et al., 2001; CHUNG et al., 2008). Além disso, a expressão aumentada da metalotioneína em tecidos danificados pode resultar no aumento nas concentrações de citocinas, fatores de crescimento e genes mais resistentes ao estresse oxidativo, pois é capaz de inibir a atividade a óxido nítrico sintetase indutível, (iNOS) e da ciclooxigenase 2 (COX-2), enzimas que catalisam as reações com espécies reativas de oxigênio (GALLICCHIO et al., 2005).

A metalotioneína também participa de outros mecanismos envolvidos na angiogênese, como o fator de crescimento de fibroblastos (fibroblastos fator de crescimento, FGF), fator de crescimento transformador (fator de crescimento transformador, TGF- $\beta$ ) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), resultando em melhor suprimento sanguíneo para o tumor e seu aumento (CHERIAN et al., 2003). Na pesquisa de Jin et al. (2002) foi relatado que a MT se correlaciona positivamente com a proliferação celular e o grau histológico, sendo o grau 3 de maior expressão da metalotioneína quando comparado aos graus 1 e 2, o que confirma a participação da MT no crescimento e invasão de células cancerosas.

No estudo de Kim et al. (2011) foi observado que a superexpressão de MT-2A aumenta a expressão da MMP-9, metaloproteinase responsável por promover a migração e invasão do câncer de mama por degradar a gelatina e o colágeno IV, principal componente da membrana basal, o que favorece a ruptura da membrana e disseminação de células cancerosas. O mecanismo potencial para o aumento da expressão de MMP-9 induzida por MT-2A é a ativação das vias de sinalização NF $\kappa$ B e AP-1, necessárias para a regulação positiva de MMP-9, assim, a regulação dessa metaloproteinase é um dos mecanismos pelos quais a MT-2A promove a invasão celular (LIU et al., 2017; OSANI et al., 2017).

A superexpressão da metalotioneína também está relacionada à resistência à radiação e drogas antineoplásicas, como a cisplatina (pt). A expressão aumentada de MT inativa a platina, inibindo a apoptose de células cancerígenas. Se antraciclina forem usadas, especialmente a doxorubicina, (DOX) e daunorrubicina (DRB), a capacidade de MT para neutralizar radicais livres é o principal fator do surgimento de resistência aos quimioterápicos (BIZÓN et al., 2011).

Segundo Cherian et al. (2003) o seqüestro de radicais livres, drogas ou seus metabólitos pela MT podem inibir a interação direta de agentes antineoplásicos, diminuindo assim a eficácia de seus efeitos quimioterapêuticos. O papel da MT no desenvolvimento de quimiorresistência no ambiente clínico ainda é controverso, porém é importante desenvolver métodos terapêuticos que minimizaria o papel

antioxidante e anti-apoptótico da MT, mantendo seu impacto na proteção de células saudáveis, expostos a efeitos nocivos de rádio e quimioterapia.

### 10.3 RELAÇÃO ENTRE METALOTIONEÍNA E APOPTOSE

A apoptose é um tipo de morte celular que desempenha funções importantes na regulação do crescimento, desenvolvimento e resposta imune e na eliminação de células anormais nos organismos, além disso, é por meio da apoptose que os organismos podem manter uma determinada quantidade de células para viver bem. Para execução da apoptose, é necessário que haja a cooperação de uma série de moléculas, como receptores, enzimas e proteínas reguladoras de genes. A morte celular é essencial para o desenvolvimento normal e contínuo, pois essas células morrem para garantir a funcionalidade do organismo, sendo assim, é considerada necessária aos ciclos da vida (ANITA et al., 2014).

No mecanismo da apoptose, as caspases, que são proteases aspartatos com cisteína, possuem o papel principal. As caspases podem ser ativadas por três vias, no qual duas vias de iniciação mais comuns são as íntiseca ou mitocondrial e a extrínseca ou receptora de morte da apoptose, e a terceira via é conhecida como via intrínseca do retículo endoplasmático (WONG, 2011).

A apoptose no câncer tem sido amplamente estudada, reconhecendo que a via de sinalização apoptótica é prejudicada durante a transformação oncogênica, dessa forma, a atividade reduzida das caspases é muito comum em células cancerígenas, assim como o desequilíbrio entre as proteínas anti e pró-apoptóticas BCL2 e BAX são importantes no resultado da resposta ao medicamento (DELOU et al., 2016).

No câncer as células normais são transformadas em malignas, no qual a evasão da morte celular é uma das essenciais alterações responsável por essa transformação. A apoptose reduzida ou sua resistência geralmente ocorre devido alguns mecanismos como interrupção do equilíbrio de proteínas pró-apoptóticas e anti-apoptóticas, função reduzida das caspase e sinalização do receptor da morte prejudicada, sendo assim, essa apoptose desempenha papel vital na carcinogênese. A MT está envolvida na apoptose por meio da regulação da concentração intracelular de  $Zn^{2+}$ , que é um mediador intracelular da apoptose, além disso, o  $Zn^{2+}$  inibe muitas proteínas associadas a apoptose e impede a fragmentação do DNA (WONG, 2011; SHAMSI; FATIMA, 2014).

A MT regula a atividade do NF- $\kappa$ B, por meio de proteínas envolvidas na apoptose, essa é uma das interações mais importantes. O NF- $\kappa$ B é um fator de transcrição envolvido na regulação da apoptose, sua superexpressão torna as células cancerígenas resistentes a agentes quimioterápicos, além disso, foi sugerido que as proteínas antiapoptóticas IAP, IEX-1L e a família Bcl-2 são

reguladas pela transcrição desse fator. A MT-1 e MT-2 são capazes de regular o nível, localização e atividade celular do NF-kB, com efeito, a MT se relaciona com a subunidade p50 de NF-kB para aumentar a transativação de NF-kB. Existem estudos que verificaram que a superexpressão de MT também regula, de forma positiva, a ligação de DNA de NF-kB (BRANISLAV et al., 2013).

#### 10.4. METALOTIONEÍNA E A HOMEOSTASE DO ZINCO

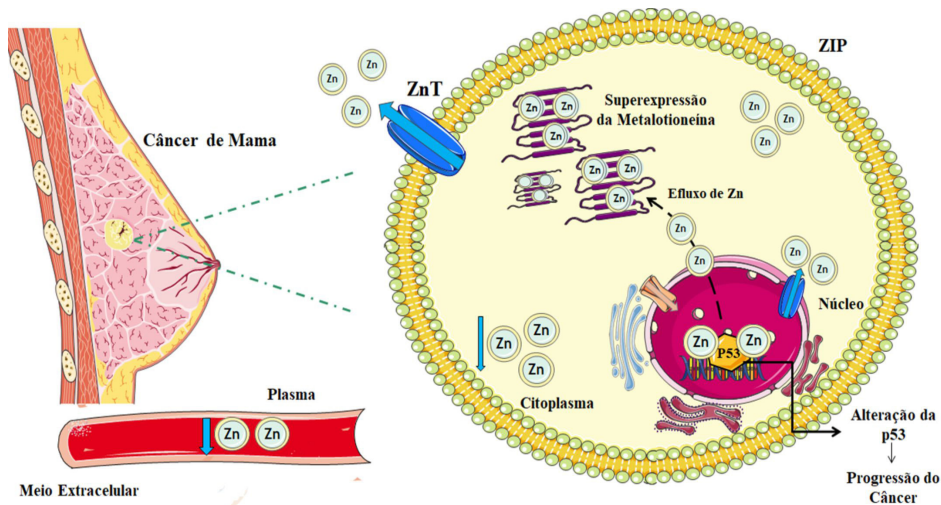
Os micronutrientes possuem papel importante nos mecanismos anticarcinogênicos, particularmente o zinco, este tem sido um nutriente interessante pois é um componente presente em mais de 300 enzimas, incluindo as antioxidantes como a metalotioneína. O zinco atua como fator de transcrição de enzimas envolvidas na síntese de DNA e RNA, além disso, como cofator de proteínas que controlam as respostas a danos no DNA, enzimas de sinalização intracelular e metaloproteinase da matriz, que são proteínas envolvidas na patogênese do câncer de mama. Sendo assim, alterações nos níveis de zinco podem desempenhar um importante papel no desenvolvimento e progressão do câncer (HOLANDA et al., 2017).

Um dos assuntos mais questionados da metalotioneína é a sua afinidade com os íons metálicos. Com os diversos estudos realizados após a descoberta da metalotioneína, descobriram que essa proteína interage com diversos íons, incluindo o zinco, no qual apresenta funções reguladoras no metabolismo desse mineral. O zinco é considerado necessário para a função fisiológica de todas as células, influenciando o estado redox, atividade enzimática, metabolismo energético, ciclo celular, apoptose, entre outros. Sendo assim, o desequilíbrio dos níveis de zinco tem diversas consequências, entre elas, o desenvolvimento de câncer e outras doenças (BRASNILAV et al., 2013).

A principal função fisiológica da MT é manter a homeostase e transporte de metais essenciais, como o zinco. O zinco é um metal importante pois fornece funções estruturais e catalíticas a diversas proteínas. A apo-MT se liga com a alta afinidade ao zinco, aumentando as concentrações de zinco no meio intracelular, a MT é rapidamente proteolizada quando os níveis de zinco são insuficiente para estabilizar a proteína, assim o zinco é liberado pela degradação de MT que mantém uma concentração de zinco equilibrada no meio intracelular (REBOLLAR et al., 2017).

A MT possui uma relação íntima com o metabolismo do zinco, pois a proteína fornece íons necessário para sustentar as atividades de proteases e fatores de transcrição por meio da proteína de ligação a íons Zn. A MT que se liga ao zinco tem a função de regular o metabolismo do zinco, eliminando os radicais livres, a ligação intracelular de zinco ocorre quando a síntese de MT aumenta, esse processo leva a íons Zn livres e controlados (KANG et al., 2015).

A metalotioneína transporta o zinco para o meio intracelular, onde o zinco será fonte para diversas proteínas e enzimas, como o receptor de estrogênio, fator de transcrição IIIA e dos domínios de estabilização da p53 (MÉPLAN;RICHARD; HAINAUT, 2000; OSTRAKHOVITC et al., 2006). Sob condições de deficiência do zinco citoplasmático, como é o caso do câncer de mama, a metalotioneína pode sequestrar zinco do núcleo celular e assim, reduzir a atividade de transcrição da p53, uma vez que as proteínas dedo de zinco participam da estabilidade funcional da proteína p53 (Figura 1) (TINOCO-VERAS, 2011).



**Figura 1:** Representação da Superexpressão da Metalotioneína no câncer de mama e o sequestro do zinco do núcleo da célula, comprometendo a função apoptótica da p53.

Fonte: Elaboração dos autores.

A metalotioneína obstrui o zinco citosólico e mantém quantidades desprezíveis de zinco citosólico livre, sendo assim é necessário que haja um controle nessa obstrução para manter o estado redox das células, pois os níveis aumentados e diminuídos de zinco levam ao estresse oxidativo. Além disso, a metalotioneína consegue se defender do estresse oxidativo devido o seu alto teor de cisteína, no qual a ela se liga aos radicais livres que atuam como sequestradores de espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio, superóxido, óxido nítrico e radicais hidroxil. A eliminação dos radicais livres por meio da metalotioneína defendem o DNA, proteínas e lipídios contra danos oxidativos desses compostos altamente reativos (ALAM; KELLEHER, 2012).

O MTF-1 é uma proteína de dedo de zinco e está envolvido na homeostase do zinco e nas respostas celulares a metais pesados, hipóxia, estresse oxidativo e radiação ionizante. Após a ligação do zinco ao dedo de zinco por meio da

alteração na concentração intracelular de zinco livre, o MTF-1 induz a ativação da transcrição na região promotora de genes direcionados que codificam MT1, MT2, transportador de zinco e a cadeia glutamato-cisteína ligase, uma proteína que possui relação com o estresse oxidativo. Sendo assim, o zinco tem efeito protetor contra estresse oxidativo, parcialmente por meio da via MTF-1, porém é necessário a realização de mais estudos que envolvem o ação do zinco como agente pró-antioxidante ou supressor de estresse oxidativo por modulação da via do sinal MTF-1 (PRASAD; BAO, 2019).

## 10.5 FUNÇÃO ANTIOXIDANTE DA METALOTIONEÍNA

Os radicais livres podem ser úteis ou prejudiciais ao nosso corpo, seus efeitos prejudiciais são equilibrados pela ação antioxidante. Os danos relacionados aos radicais, como DNA, proteínas e lipídios, desempenham papel fundamental no desenvolvimento de doenças como o câncer. A metalotioneína é compartilhada particularmente na desintoxicação de metais pesados e na manutenção de íons metálicos, pois possui alta afinidade por esses metais. Estudos demonstram que a MT é capaz de eliminar radicais hidroxila *in vitro* mais do que a glutatona (ASAAD et al., 2018).

A metalotioneína tem sido considerada como uma molécula antioxidante no sistema de defesa celular do corpo, eliminando os radicais livres, essa função antioxidante é atribuída pela presença de um grande número de resíduos de cisteína, que além de se ligarem ao metal, também eliminam as espécies reativas de oxigênio (ERO), o sistema de defesa antioxidante contra os níveis intracelulares dessas espécies é composto por moléculas não enzimáticas, incluindo a metalotioneína (HUANG et al., 2014; KEPINSKA et al., 2018).

A MT possui efeito anti-inflamatório devido a modulação da expressão de diversas citocinas pró e anti-inflamatórias, no qual auxilia o seu efeito antioxidante no organismo. Além disso, estudos demonstram que o zinco induz a concentração de MT e enzimas antioxidantes e diminui os radicais livres associados ao Cu e Fe (PRASAD; BAO, 2019).

Juntamente com a glutatona, a MT é capaz de proteger as moléculas que são facilmente oxidáveis dos radicais livres, diminuindo o nível de ERO. Além disso, a MT possui defesas celulares contra a troca negativa da apoptose mediada pelo estresse oxidativo. A propriedade antioxidante da MT é aumentada na presença de  $Zn^{2+}$ , quando há a redução do acesso do  $Zn^{2+}$  a partir do MT, o MT mutante diminui sua resposta ao óxido nítrico ou está em um estado oxidado, sem limitações de uma quantidade suficiente de  $Zn^{2+}$  (SHAMSI; FATIMA, 2014).



## 10.6 METALOTIONEÍNA COMO BIOMARCADOR DE DIAGNÓSTICO DE CÂNCER DE MAMA

O aumento da incidência de câncer de mama torna necessário a busca por biomarcadores capazes de prever o risco e as reações futuras dessa neoplasia e por meio disso auxiliar no seu manejo. A metalotioneína é detectada no sangue do paciente e seus níveis séricos estão relacionados com o estágio da doença, estado patológico e grau de progressão, nesse sentido, essa proteína atua como excelente biomarcador no câncer de mama. Diversos estudos demonstram que os níveis de MT estão elevados no câncer de mama e que em combinação com os marcadores usados, o MT pode melhorar a taxa de prognóstico precoce (SI; LANG, 2018; KIM et al., 2011).

Os níveis elevados desta proteína, com a presença do seu efeito antioxidante, protege as células cancerígenas contra os danos causados pelos radicais livres. Algumas evidências demonstram que a metalotioneína é um biomarcador imunohistoquímico, devido à sua elevada expressão em células mioepiteliais do carcinoma invasivo da mama, porém, é necessário estudos que avalie o comportamento dessa proteína no fibroadenoma, um tumor benigno que não resulta no desenvolvimento do câncer de mama, o que torna ideal um controle dessa condição para determinar o efeito da expressão da proteína no prognóstico de câncer de mama (SAMPAIO et al., 2017).

Assim como no câncer mamário, biomarcadores como a metalotioneína também têm sido avaliada em tecidos mamários normais com tumores benignos, como fibroadenoma, pois essa proteína pode ser expressa por células normais e cancerosas, estando envolvida na progressão do tumor de vários tecidos (DAVIES et al., 1993). No estudo El Sharkawy e Farrag (2008) foi avaliado a superexpressão de metalotioneína em células do tecido do câncer de mama em comparação com as do fibroadenoma. Segundo os autores, uma maior expressão de MT estava relacionada ao comportamento agressivo do tumor no carcinoma ductal de mama em comparação com o fibroadenoma. Outros autores forneceram confirmação adicional de que a expressão nuclear maior de MT foi mais frequentemente observada em carcinomas, em comparação com tumores benignos (GOMULKIEWICZ et al., 2010).

A partir dessas investigações pode-se concluir que a metalotioneína pode ser biomarcador de diferenciação celular no câncer de mama e agressividade. Estudos indicam que a superexpressão da MT-1 impede a ligação da p53 ao DNA, assim, o p53 pode não ser capaz de agir como um fator de transcrição e modular a transcrição gênica e apoptose, o que favorece a proliferação de células mamárias. Portanto, a compreensão aprofundada dos mecanismos envolvendo essa proteína

pode contribuir com o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes para pacientes com câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

- ALAM, S; KELLEHER, S.L. Cellular Mechanisms of Zinc Dysregulation: A Perspective on Zinc Homeostasis as an Etiological Factor in the Development and Progression of Breast Cancer. **Nutrients**, v. 4, n.1, p. 875-903, 2012.
- ANITA et al. Apoptosis (Programmed cell death) - in review. **World Journal Of Pharmaceutical Research**, v. 3, p. 1854-1872, 2014.
- ASAAD, J. I. et al. Antioxidant action of melatonin, metallothionein, superoxide dismutases, cytochromes p 450 and total antioxidant capacity in iraqi prostate cancer patients. **Biochem. Cell. Arch**, v. 18, n. 1, p. 141-146, 2018.
- BELLAZZO, A. et al. Complexes formed by mutant p53 and their roles in breast cancer. **Breast Cancer - Targets and Therapy**, v.10, n.1, p.101-112, 2018.
- BIZÓN, A; JEDRYCZKO, K; MILNEROWICZ, H. Rola metalotioneiny w procesie nowotworzenia oraz w leczeniu chorób nowotworowych. **Postepy Hig Med Dosw** , v. 71, n.1, p.98-109, 2017.
- BRASNILAV, R. N. et al. The Role of Metallothionein in Oxidative Stress. **Int. J. Mol. Sci**, v. 14, p. 6044 - 6066, 2013.
- CHERIAN, M.G; JAYASURYA.A; BAY B.H. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.533, n.1-2, p.201-9, 2003.
- CHIMIANTI, F. et al. Role of cellular zinc in programmed cell death: temporal relationship between zinc depletion, activation of caspases, and cleavage of Sp family transcription factors. **Biochem. Pharmacol**, v.62, n.1, p.51-62,2001.
- CHUNG, R.S. et al. Redefining the role of metallothionein within the injured brain: extracellular metallothioneins play an important role in the astrocyte-neuron response to injury. **J. Biol. Chem**, v.283, n.22, p.15349-58, 2008.
- DAI, X. et al. Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. **J Cancer**, v.7, n.10, p.1281-94, 2016.
- DAVIES, B. et al. Activity of type IV collage- nases in benign and malignant breast disease. **Br. J. Cancer**, v.67, n.5, p.1126-31, 1993.

EL SHARKAWY, S.L ; FARRAG A.R.H. Mean Nuclear Area and Metallothionein Expression in Ductal Breast Tumors: Correlation With Estrogen Receptor Status. **Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, v.16, n.2, p.108-12, 2008.

FLORIANCZYK, B; GRZYBOWSKA, L; MARZEC, Z. Metallothionein and manganese concentrations in breast. **Journal of Pre-Clinical an Clinical Research**, v. 5, n. 2, p. 63-65, 2011.

GALLICCHIO, L.M. et al. Metallothionein expression in invasive and in situ breast carcinomas. **Cancer Detection and Prevention**,v.29, n.1,p.333-337, 2005.

GOMULKIEWICZ, A. et al. Correlation between Metallothionein (MT) expression and selected prognostic factors in ductal breast cancers. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v.48, n.2, p. 242-248, 2010.

GUMULEC, J. et al. Effect of zinc supplementation on the expression of metallothionein and p53 in musmusculus with induced metastatic breast cancer. Conferência: European Cancer Congress 2013 - 17th ECCO / 38th ESMO / 32nd ESTRO Local: Amsterdam, NETHERLANDS Data: SEP 27-OCT 01, 2013.

HOLANDA, A. O. N. et al. Zinc and metalloproteinases 2 and 9: What is their relation with breast cancer?. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 63, n. 1, p. 78-84, 2017.

HUANG, S. S. et al. Antioxidant activities of two metallothionein-like proteins from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam. ‘Tainong 57’) storage roots and their synthesized peptides. **Botanical Studies**, v. 55, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, José Alencar Gomes da Silva. Ministério da saúde. Coordenação de Prevenção e Vigilância **Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2016.

DELOU, J. M. A; BIASOLI, D; BORGES, H. L. The Complex Link between Apoptosis and Autophagy: a Promising New Role for RB. **An. Acad. Bras. Cienc**, v. 88, n. 4, 2016.

KANG, M. et al. Reduced metallothionein expression induced by Zinc deficiency results in apoptosis in hepatic stellate cell line LX-2. **Int. J. Clin. Exp. Med**, v. 8, n. 11, 2015.

KEPINSKA, M; KISEK, R; MINELROWICZ, H. Metallothionein and Superoxide Dismutase—Antioxidative Protein Status in Fullerene-Doxorubicin Delivery to MCF-7 Human Breast Cancer Cells. **Int. J. Mol. Sci**, v. 19, 2018.

KIM, H.G. et al. Metallothionein-2A overexpression increases the expression of matrix metalloproteinase-9 and invasion of breast cancer cells. **FEBS Lett**, v.585, n.1, 421-428, 2011.

OSTRAKHOVITCH, E.A. et al. Interaction of metallothionein with tumor suppressor p53 protein. **FEBS Lett**, v.580, n.5, p.1235-8, 2006.

PRASAD, A. S; BAO, B. Molecular Mechanisms of Zinc as a Pro-AntioMediator: Clinical Therapeutic Implications. **Antioxidants**, v. 8, n. 164, 2019.

REBOLLAR, D. J. et al. Metallothionein in Brain Disorders. **Hindawi**, v. 9, p. 1-12, 2017.

SAMPAIO, F. A. et al. A case-control study of Metallothionein-1 expression in breast cancer and breast fbroadenoma. **Scientific Reports**, v. 9, 2019.

SHAMSI, T. N; FATIMA, S. Metallothionein: Classification, biochemical features and clinical applications. **Journal of Proteins and Proteimics**, v. 5, n. 1, p. 25-33, 2014.

SI, M; LANG, J. The roles of metallothioneins in carcinogenesis. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 11, n. 107, 2018.

THIRUMOORTHY, N. et al. Metallothionein: An overview. **World of Journal Gastroentorology**, v. 13, n. 7, p. 993-996, 2007.

TINOCO-VERAS, C.M. et al. Analysis of plasma and erythrocyte zinc levels in premenopausal women with breast cancer. **Nutr Hosp.**,v. 26, n.2, p.293-7, 2011.

WONG, R. S. Y. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 30, n. 87, 2011.

# Capítulo 11

## Fator Nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) e o Câncer de Mama

*Camila Maria Simplicio Revoredo*

*Isabel Oliveira Aires*

*Marília Cabral Araújo*

### 11.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia mais frequentemente diagnosticada em mulheres em todo o mundo e é a principal causa de morte por câncer neste grupo (BRAY et al., 2018). Apesar do diagnóstico precoce por meio da triagem mamográfica e dos avanços terapêuticos, o câncer de mama está associado à alta mortalidade, exigindo uma mudança de estratégia quando uma terapia é ineficaz (SAMPAIO et al., 2019). Essa patologia possui etiologia desconhecida e é responsável por muitas mortes, apesar dos recentes avanços terapêuticos, havendo necessidade de novos parâmetros, tais como biomarcadores, que possam auxiliar no desenvolvimento de estratégias de prognósticas e terapêuticas. A propósito, várias moléculas inflamatórias e vias de sinalização estão envolvidas na proliferação, sobrevivência, transição epitelial mesenquimatoso, invasão e metástase de células do câncer de mama (HARRIS; CASTO; HARRIS, 2014; MANDAL, BHATIA, BISHAYEE, 2017).

Nas últimas décadas, pesquisas com marcadores moleculares têm sido realizadas a fim de fornecer uma ferramenta prognóstica útil e um possível alvo terapêutico (BERTOZZI et al., 2018). A análise de biomarcadores não fornece apenas informações adicionais sobre fatores clínicos clássicos, mas também permite uma relação risco-benefício mais favorável para que pacientes recebam tratamentos adequados (COLOMER et al., 2018). Nesta perspectiva, o fator nuclear kappa B (NF  $\kappa$ B) é uma via de sinalização importante do metabolismo inflamatório explorada em pesquisas atuais relacionadas ao câncer de mama (CHANG et al., 2018; LIU et al., 2018; MARINELLO et al., 2019).

NF- $\kappa$ B é um fator de transcrição reguladora da expressão de genes envolvidos com a resposta imune e inflamatória. Além disso, a via de sinalização NF- $\kappa$ B tem sido descrita como crucial para outros processos biológicos, incluindo proliferação, diferenciação e sobrevivência celular (GUPTA et al., 2010). A

ativação desregulada desta proteína tem sido associada à carcinogênese através de uma ligação entre a inflamação, microambiente tumoral e metástase (VELLOSO et al., 2017).

Este fator de transcrição é formado por uma família de cinco membros, tais como, RelA (também conhecido como p65), RelB, c-Rel, p50 e p52, formando homo e heterodímeros. Na ausência de estímulos específicos, estes dímeros estão ligados a I $\kappa$ B (inibidores de NF- $\kappa$ B) e são mantidos inativos (CONELLY et al., 2011). Embora o NF- $\kappa$ B seja necessário para a morfogênese da glândula mamária normal, sua ativação desregulada tem sido associada à progressão tumoral, levando a carcinogênese da mama (VELLOSO et al., 2017).

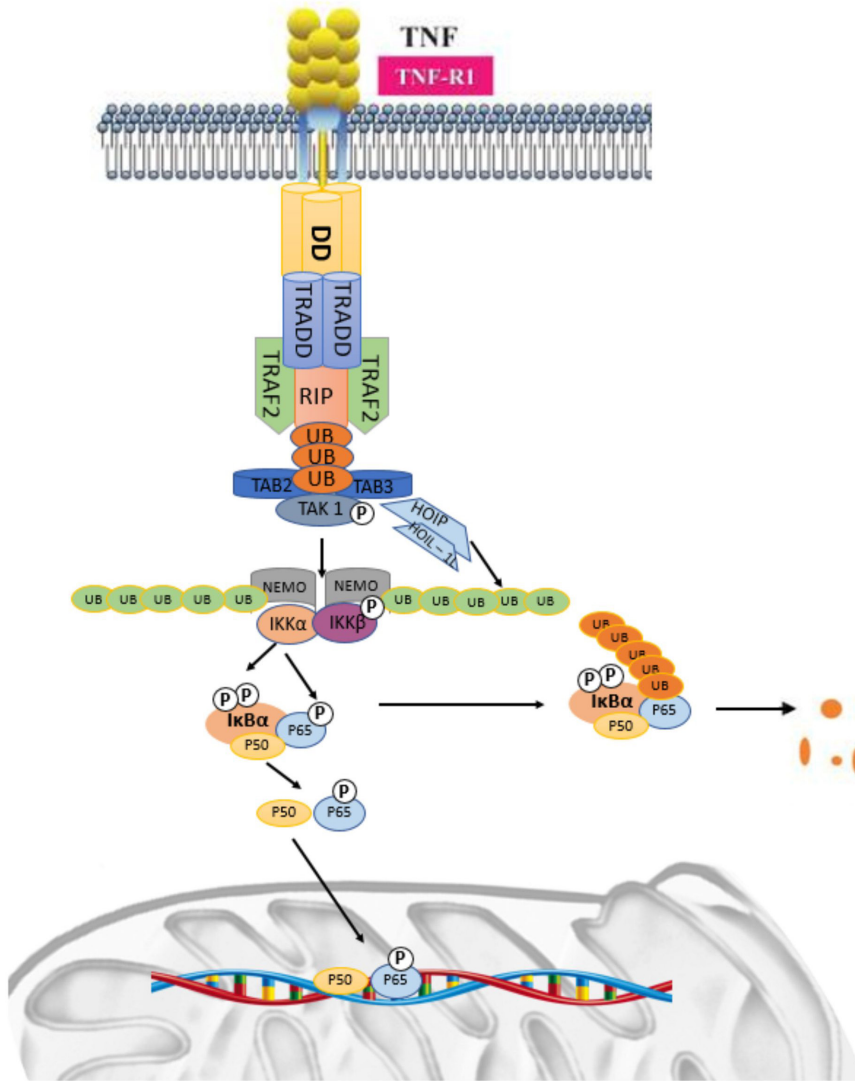
## 11.2 MECANISMO DE AÇÃO

A ativação do NF- $\kappa$ B depende principalmente de duas vias que são a via clássica (canônica) ou alternativa (não canônica), e ambas são dependentes da fosforilação e degradação induzidas por sinais de uma molécula inibidora seguida da liberação e transferência nuclear de proteínas NF- $\kappa$ B. A via clássica é dependente de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  ou IL-1 $\beta$ ), já a via alternativa é desencadeada pela ação parcial da molécula inibidora p100 em p52 por meio de uma via dependente de quinase indutora de NF $\kappa$ B – NIK (CHARIOT; SHOSTAK, 2011).

Uma vez no interior do núcleo, o NF- $\kappa$ B ativado passa por uma série de modificações pós-tradução, entre elas a fosforilação, acetilação e metilação. Além disso, o NF- $\kappa$ B ativado se liga a sequências específicas de DNA em genes-alvo, tais como elementos de  $\kappa$ B e regula mais de 500 genes envolvidos na imunorregulação, regulação do crescimento, inflamação, carcinogênese e apoptose (GUPTA et al., 2010).

Chariot e Shostak (2011) descreveram as principais vias de sinalização do NF- $\kappa$ B. A figura 1 ilustra o mecanismo de sinalização através da via clássica. Nesta, o TNF- $\alpha$  se liga ao receptor TNF TNFR1 desencadeando o recrutamento sequencial dos adaptadores TRADD (proteína do domínio da morte associado ao TNFR1) RIP e TRAF2 (fator 2 associado ao receptor do TNF) à membrana. A seguir, o TRAF2 intercede o recrutamento do IKK – complexo I $\kappa$ B quinase, integrado por IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  e NEMO (modulador essencial NF- $\kappa$ B), para o complexo de sinalização TNFR1. Em seguida, as proteínas de andaime TAB2 e TAB3 se ligam imediatamente a substratos Lys63-polubiquetilados, tais como a proteína de interação com o receptor (RIP)1, que resulta na ativação de TAK1 e, em seguida, de IKK $\beta$ . A ativação deste leva à fosforilação de I $\kappa$ B $\alpha$  em produtos finais específicos, polubiquitilação através da ligação de proteínas da ubiquitina e sua degradação via proteassoma. Por fim, o heterodímero p50-p65 se liga a

locais  $\kappa B$  específicos e ativa genes variados de NF- $\kappa B$  que codificam citocinas pró-inflamatórias IL-6 e quimiocinas.

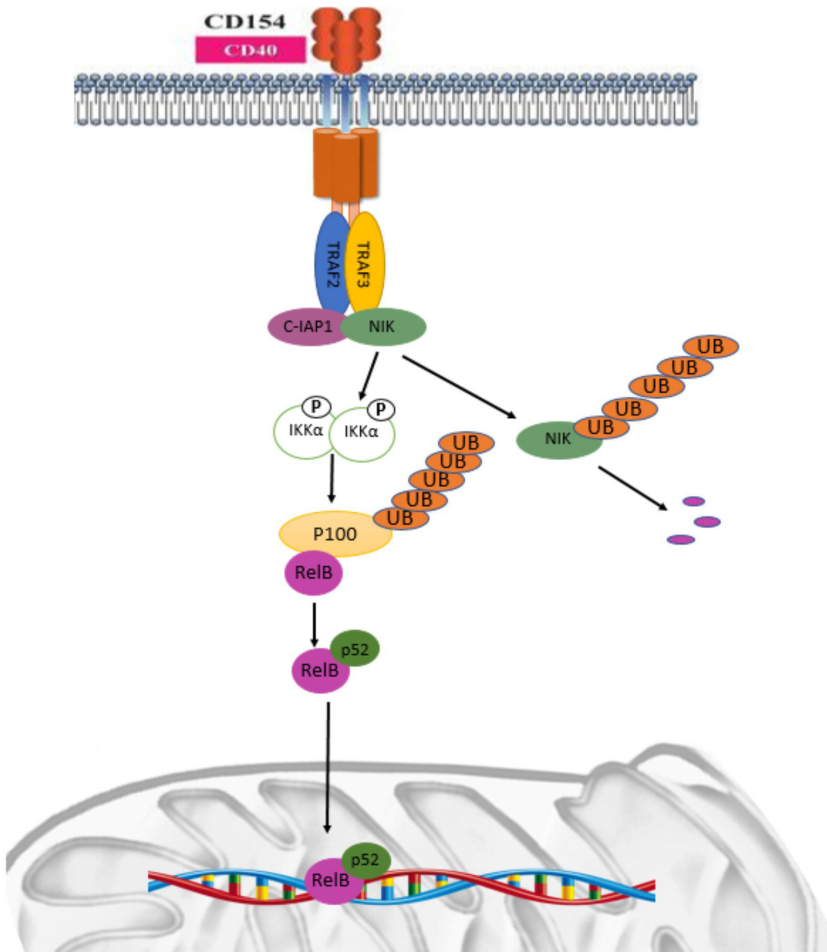


**Figura 1.** Via clássica ou canônica de sinalização do NF- $\kappa B$ .

Fonte: Elaboração dos autores.

A via alternativa (Figura 2) também contribui para o desenvolvimento do tumor em mama, e uma prova disso foi obtida a partir do fenótipo de um modelo transgênico de camundongo, onde p100/p52 é superexpressado no epitélio da mama utilizando o promotor de proteína do leite  $\beta$ -lactoglobulina (CONELLY et al., 2007). De acordo com Chariot; Shostak (2011), a ativação do NF- $\kappa B$

na via não-canônica ocorre após a ligação ao CD154, acionando a via clássica dependente de NEMO (não ilustrada) e a cascata não dependente de NEMO, que se baseia no recrutamento do heterodímero TRAF2-TRAF3 para o receptor CD40. O TRAF3 atua na conexão das ligases E3 cIAP1/2 (inibidor celular da apoptose 1/2) à quinase NIK (quinase indutora de NF- $\kappa$ B). Após ser ativada por fosforilação, a NIK é submetida a uma poliubiquitinação degradativa dependente de c-IAP1/2. Em seguida, são ativados os homodímeros de IKK $\alpha$  por NIK, fosforilando a molécula inibidora p100, gerando parcialmente a NF- $\kappa$ B p52, indo para o núcleo como um heterodímero com RelB para regular a expressão de genes envolvidos na organogênese linfóide ou na codificação de quimiocina de linfócitos B (BLC) ou citocinas BAFF (fator de ativação das células B).



**Figura 2.** Via alternativa ou não-canônica de sinalização do NF- $\kappa$ B.

Fonte: Elaboração dos autores.



A inflamação constitui-se como uma reação complexa em resposta ao estresse oxidativo desencadeado por infecções, exposição à toxinas ou à lesão celular (VELLOSO et al., 2017). Quando o processo de inflamação está desregulado, afeta cronicamente a homeostase tecidual, podendo levar a distúrbios nas interações entre os sistemas imune e a ativação desregulada do NF- $\kappa$ B o que leva ao rompimento do equilíbrio entre a proliferação celular e a morte através da regulação positiva de proteínas antiapoptóticas, perda de mecanismos de retroalimentação negativa, resistência à morte celular e iniciação tumoral (SHOSTAK; CHARIOT, 2011).

### 11.3 NF- $\kappa$ B NO INDVÍDUO SAUDÁVEL

NF- $\kappa$ B é um fator de transcrição que serve como um interruptor principal para ativar certas respostas imunológicas e inflamatórias. Esse marcador altera o comportamento da célula de várias maneiras; inibe a apoptose (morte celular programada), aumenta a proliferação celular e aumenta a resposta inflamatória e imune. Evidências recentes sugerem que a ativação do NF- $\kappa$ B contribui para o desenvolvimento de vários tipos de câncer humano, incluindo câncer de sangue e certos tipos de câncer de mama. Na maioria dos tipos de células não transformadas, os complexos NF $\kappa$ B são amplamente citoplasmáticos e, portanto, permanecem transcricionalmente inativos até que uma célula receba um estímulo apropriado. A fosforilação das proteínas I $\kappa$ B resulta em rápida ubiquitinação e subsequente proteólise pelo Proteassoma 26S. A degradação dependente de proteassoma das proteínas I $\kappa$ B resulta na liberação de NF $\kappa$ B, permitindo que esse fator de transcrição se acumule no núcleo, onde ativa a expressão de genes específicos envolvidos nas respostas imunes e inflamatórias e no controle do crescimento celular (SERASANAMBATI; CHILAKAPATI, 2016).

O fator de transcrição nuclear kappa B controla a transcrição de genes de grande parte dos fatores inflamatórios, como o TNF- $\alpha$ , citocina importante na etiologia da caquexia, sendo o NF- $\kappa$ B mais ativo no músculo de indivíduos com caquexia. Além disso, atua na ativação da interleucina – 6 (IL-6), a interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), a interleucina 8 (IL-8), a ciclooxigenase-2 (COX-2), quimiocinas (proteína quimiotática de monócitos 1 ou MPC-1), sintase do óxido nítrico (iNOS) e moléculas de adesão (KUMAR et al., 2010; BARNES et al., 1997).

O Nf- $\kappa$ B participa ativamente do processo de inflamação crônica na clínica, sendo detectado em várias neoplasias, podendo atuar como supressor ou promotor de tumores, dependendo do tipo de câncer. Seu papel como promotor do tumor ocorre a partir da ativação anormal e localização no núcleo, resultando em uma cascata de eventos, como defeitos na regulação da via, perda de

mecanismos de retroalimentação negativa, resistência à morte celular e influência no microambiente do tumor (VELLOSO et al., 2017).

Além das principais vias citadas anteriormente (clássica e alternativa), o NF- $\kappa$ B também pode ser ativado pela ligação do fator de crescimento epidérmico (EGF) ao seu receptor (EGFR) e pode contribuir também para o aumento da atividade do NF- $\kappa$ B em células de câncer mamário ER-negativas (BISWAS et al., 2000). Por outro lado, ainda é um mecanismo pouco elucidado e sugere-se que seja semelhante ao descrito nas células de câncer de pulmão (SETHI et al., 2007). Também é descrita a superexpressão de quinase relacionada à IKK e IKK $\epsilon$  em adenocarcinomas na mama como resultado de uma amplificação de genes. A expressão de IKK $\epsilon$  pode ser feita pela CK2 – caseína quinase 2 em carcinoma mamário. Esta quinase promove a indução de genes de interferon tipo I, fosforilando IRF3, ativando NF- $\kappa$ B, que em seguida facilita a localização de c-REL no núcleo (BOEHM et al., 2007).

#### 11.4 VALOR PROGNÓSTICO POSITIVO DO NF- $\kappa$ B NO CÂNCER DE MAMA

A via de sinalização do NF- $\kappa$ B inclui uma família de fatores de transcrição que desempenham papéis na imunidade e inflamação em vários tipos de câncer, incluindo o câncer de mama (ZHANG et al., 2018). A ativação de NF- $\kappa$ B leva à indução de genes alvo que podem inibir a apoptose, interação com a regulação do ciclo celular, invasão celular, contribuição para tumorigênese, inflamação e crescimento metastático, bem como resistência à rádio e quimioterapia (CHANG et al., 2018).

O microambiente inflamatório crônico do tumor mantém o NF- $\kappa$ B constitutivamente ativo na maioria das células tumorais e assim, o NF- $\kappa$ B controla vários processos celulares no câncer, como inflamação, transformação, proliferação, angiogênese, invasão, metástase, quimiorresistência e radiorresistência. Portanto, a supressão de NF- $\kappa$ B pode ter um impacto positivo ao inibir o crescimento de células tumorais, inclusive no câncer de mama (VELLOSO et al., 2017).

A inibição da expressão do NF- $\kappa$ B tem sido amplamente discutida e pode ser uma estratégia promissora para o tratamento do câncer de mama. Na avaliação da eficácia do CYC065, um inibidor de CDK2 / 9, e da eribulina em 3 linhagens de células com câncer de mama triplo negativo constatou-se que o tratamento combinado dessas substâncias aumentou significativamente a atividade de API e diminuiu a atividade das proteínas NF  $\kappa$ B, SP1, E2F e SMAD3 (RAO et al., 2017). Além disso, a inibição do NF- $\kappa$ B pela Bay-11-7082 resultou numa redução na expressão de CD44 e consequentemente diminuiu proliferação e a invasão das células do câncer de mama triplo-negativo (SMITH LYU; CAI, 2014).

O manejo clínico do paciente com câncer de mama depende da disponibilidade de fatores prognósticos e preditivos clínicos e patológicos para a realização de um abordagem terapêutica eficaz (RAKHA et al., 2010). Dois estudos que avaliaram o valor prognóstico positivo do NF- $\kappa$ B não mostraram associação da expressão desse marcador com a sobrevida do paciente portador de câncer de mama (JAMSHIDI et al., 2012; ROSEWEIR et al., 2018) e outro não encontrou relação entre esta proteína e as características clínico-patológicas de mulheres com carcinoma mamário (ROSEWEIR et al., 2018).

### 11.5 VALOR PROGNÓSTICO NEGATIVO DO NF- $\kappa$ B NO CÂNCER DE MAMA

O NF- $\kappa$ B é um importante fator transcricional inflamatório que é essencial para vários processos biológicos (GU et al., 2018). Há fortes indícios sobre o papel crítico do NF- $\kappa$ B no desenvolvimento e progressão do tumor (DANG et al., 2015). Existem evidências que a expressão de NF- $\kappa$ B pode interferir de maneira significativa na sobrevida livre de doenças de pacientes com câncer de mama. Alguns estudos apontam que mulheres com superexpressão de NF- $\kappa$ B nuclear ou citoplasmático tiveram menor tempo de sobrevida e maior recorrência da doença em comparação com pacientes com baixa expressão deste marcador (OHOTSKI et al., 2013).

A superexpressão de NF- $\kappa$ B também tem sido relacionada com o alto grau histológico, tamanho tumoral, metástase linfonodal, subtipo molecular, proliferação e estágio avançado da doença o que implica em uma biologia tumoral agressiva e prognóstico ruim (DAI et al., 2012; DEBARSHI et al., 2012; JEONG et al., 2018; RAJKOVIC-MOLEK et al., 2014). A superexpressão de NF- $\kappa$ B também se associa a tumores mamários com ER e PR-negativos e HER-2 positivo (DEBARSHI et al., 2012; JAMSHIDI et al., 2012; JEONG et al., 2018; RAJKOVIC-MOLEK et al., 2014). A perda da função do ER tem sido associada à atividade contínua de NF- $\kappa$ B que leva à secreção de citocinas e fatores de crescimento, que culminam em cânceres agressivos, metastáticos e resistentes a hormônios.

A ativação de NF- $\kappa$ B também ocorre devido à negatividade de PR, uma vez que, quando ativo, o receptor de progesterona pode levar à inibição da expressão gênica impulsionada por NF- $\kappa$ B, reduzindo sua ligação ao DNA e a atividade transcricional. É importante ressaltar que a expressão de HER-2 tem sido associada a maior agressividade biológica de tumores mamários e a resistência a alguns tipos de tratamento (KONECNY et al., 2003). O HER-2 superexpresso atua ativando o NF- $\kappa$ B através da via canônica, o que leva a alterações na invasão e proliferação de células cancerígenas da mama (DEBARSHI et al., 2012).

Nas células mamárias com mutação ou deficiência de BRCA1 existe uma ativação persistente de NF- $\kappa$ B que contribui para um aumento da proliferação celular e danos ao DNA (SAU et al., 2016). Além disso, na construção de uma rede de interação genética usando os bancos de dados Gene Ontology e Kyoto Encyclopedia of Genes e Genomes foi identificado as vias de sinalização MAPK, NF- $\kappa$ B e VEGF como as vias mais críticas que regulam a metástase hepática do câncer de mama, incluindo disseminação do tumor primário de mama, trânsito pela vasculatura, sobrevivência e proliferação no fígado (CHEN et al., 2017).

Recentemente foi elucidado que os genes da família do fator de transcrição NF- $\kappa$ B e seus elementos reguladores podem afetar a resposta à quimioterapia adjuvante. O aumento da expressão de SP1 foi associado com mau prognóstico em pacientes com câncer de mama triplo negativo (TNBC) tratados com doxorrubicina (KIM et al., 2016). A doxorrubicina inibe a síntese de DNA e RNA, no entanto, o dano ao DNA induzido por este fármaco ativa a via do NF- $\kappa$ B, levando à resistência à droga em linhagens celulares de câncer (FANG et al., 2014).

## 11.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de mama é classificado como uma patologia complexa, na qual a variação do progresso clínico da doença é determinada por inúmeros fatores e mecanismos ainda não totalmente elucidados. Grande parte dos estudos revela que o NF- $\kappa$ B está relacionado a um prognóstico negativo e pode contribuir para uma abordagem terapêutica promissora no câncer de mama. No entanto, são necessários estudos clínicos e epidemiológicos adicionais para entender o impacto clínico dessa proteína no câncer de mama humano. Nesse sentido, torna-se necessária a realização de mais estudos que avaliem a expressão do NF- $\kappa$ B, com o objetivo de determinar a relação deste marcador com o prognóstico de mulheres com o carcinoma mamário e torná-lo parâmetro possível de ser mensurado no momento do diagnóstico e servir como indicador de sobrevida do paciente.

## REFERÊNCIAS

- BARNES, P.J; KARIN, M. Nuclear fator-kappaB: a pivotal transcription fator in chronic inflammatory diseases. **N Engl J Med**, v.336, n.15, p.1066-1071, 1997.
- BERTOZZI, S. et al. Biomarkers in Breast Cancer, in: Biomarker: Indicator of Abnormal Physiological Process. **Intech Open**, p.3-29, 2018.

BISWAS, D.K. et al. Ativação kappa do fator nuclear induzido pelo fator de crescimento epidérmico: Uma das principais vias de progressão do ciclo celular em células de câncer de mama negativas para receptores de estrogênio. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.97, n. 15, p.8542-7, 2000.

BOEHM, J.S. et al. Integrative genomic approaches identify IKBKE as a breast cancer oncogene. **Cell**, v.129, p.1065–1079, 2007.

BRAY, F. et al. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **Ca Cancer J Clin**, v.0, p.1-31, 2018.

CHANG, J. et al. NrF2/ARE and NF- $\kappa$ B pathway regulation may be the mechanism for lutein inhibition of human breast cancer cell. **Future Oncology**, v.14, p.719-726, 2018.

CHEN, X. et al. MAPK, NF $\kappa$ B, and VEGF signaling pathways regulate breast cancer liver metastasis. **Oncotarget**, v. 8, n. 60, p. 101452-101460, 2017.

COLOMER, R. et al. Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. **Clin Transl Oncol**, v. 20, p. 815- 826, 2018.

DAI, X. L. et al. Correlated expression of Fas, NF kappaB, and VEGF-C in infiltrating ductal carcinoma of the breast. **Eur J Gynaecol Oncol**, v.33, p.633-9, 2012.

FANG, X. J. et al. Doxorubicin induces drug resistance and expression of the novel CD44st via NF- $\kappa$ B in human breast cancer MCF-7 cells. **Oncology Reports**, v. 31, n. 2735-2742, 2014.

GU, L. et al. Prognostic significance of NF- $\kappa$ B expression in non-small cell lung cancer: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 13, 2018.

GUPTA, S. C. et al. Inhibiting NF  $\kappa$ B activation by small molecules as a therapeutic strategy. **Biochim Biophys Acta**, v. 1799, n.10-12, p. 775-787, 2010.

HARRIS, R. E; CASTO, B. C; HARRIS, Z. M. Cyclooxygenase-2 and the inflammogenesis of breast cancer. **World J Clin Oncol**, v. 5, p. 677–692, 2014.

JAMSHIDI, M. et al. NQO1 expression correlates inversely with NF- $\kappa$ B activation in human breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 132, p. 955-968, 2012.

JEONG, Y. J. et al. Prognostic Significance of Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule (ALCAM) in Association with Promoter Methylation of the ALCAM Gene in Breast Cancer. **Molecules**, v. 23, 131-143, 2018.

KIM, J. Y; JUNG, H. H; ANH, S. et al. The relationship between nuclear factor (NF)- $\kappa$ B family gene expression and prognosis in triplenegative breast cancer (TNBC) patients receiving adjuvant doxorubicin treatment. **Scientific Reports**, v. 6, p.31804, 2016.

KONECNY, G. et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst**, v. 95, 142-153, 2003.

KUMAR, N. B. et al. Cancer cachexia: traditional therapies and novel molecular mechanism-based approaches to treatment. **Current treatment options in oncology**, v.11, n.3-4, p.107–117, 2010.

LIU, M. et al. The canonical NF- $\kappa$ B pathway governs mammary tumorigenesis in transgenic mice and tumor stem cell expansion. **Cancer Res**, v. 70, p. 10464-73, 2018.

MANDAL, A; BHATIA, D; BISHAYEE, A. Anti-Inflammatory Mechanism Involved in Pomegranate-Mediated Prevention of Breast Cancer: the Role of NF- $\kappa$ B and Nrf2 Signaling Pathways. **Nutrients**, v. 9, p. 436-449, 2017.

OHOTSKI, J. et al. Identification of novel functional and spatial associations between sphingosine kinase 1, sphingosine 1-phosphate receptors and other signaling proteins that affect prognostic outcome in estrogen receptor-positive breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 132, p.605–616, 2013.

RAJKOVIC'-MOLEK, K. et al. The Prognostic Importance of Nuclear Factor  $\kappa$ B and Hypoxia-inducible Factor 1 $\alpha$  in Relation to the Breast Cancer Subtype and the Overall Survival. **Appl Immunohistochem Mol Morphol**, v. 22, p.464-70, 2014.

RAO, S. S. et al. Synergistic effect of eribulin and CDK inhibition for the treatment of triple negative breast cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 48, p. 83925-83939, 2017.

ROSEWEIR, A.K. et al. Predictive Biomarkers for Endocrine Therapy: Retrospective Study in Tamoxifen and Exemestane Adjuvant Multinational (TEAM) Trial. **JNCI J Natl Cancer Inst**, v. 110, p.616-627, 2018.

SAMPAIO, F. A. et al. A case-control study of Metallothionein-1 expression in breast cancer and breast fibroadenoma. **Sci. Rep.**, v.9, p.1-5,2019.

SAU, A. et al. Persistent Activation of NF- $\kappa$ B in BRCA1-Deficient Mammary Progenitors Drives Aberrant Proliferation and Accumulation of DNA Damage. **Cell Stem Cell**, v. 19, p. 52-65, 2016.

SERASANAMBATI, M.; CHILAKAPATI, R. S. Function of Nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) in human diseases – A Review. **South Indian Journal of Biological Sciences**, v.2, n.4, 2016.

SETHI, G. et al. O fator de crescimento epidérmico (EGF) ativa o fator nuclear kappa B através de I kappa B alfa-quinase independente, mas a tirosina 42 dependente da receptora-quinase de EGF depende da fosforilação de I kappa B alfa. **Oncogene**, v.26, n. 52, p. 7324-32, 2007.

SHOSTAK, K.; CHARIOT, A. NF- $\kappa$ B, células-tronco e câncer de mama: os vínculos ficam mais fortes. **Pesquisa sobre câncer de mama: BCR**, v.13, n.4, 2011.

SMITH, S. M.; LYU, Y. L.; CAI, L. NF-kB Affects Proliferation and Invasiveness of Breast Cancer Cells by Regulating CD44 Expression. **Plos One**, v. 9, p. e10696, 2014.

VELLOSO, F. J. et al. The crossroads of breast cancer progression: insights into the modulation of major signaling pathways. **Onco Targets and therapy**, v.10, p.5491-5524, 2017.

ZHANG, H.S. et al. NRF2 facilitates breast cancer cell growth via HIF1 $\alpha$ - mediated metabolic reprogramming. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 95, 85-92, 2018.

# Capítulo 12

## Fator Nuclear Eritroide Relacionado ao Fator 2 (NRF2) e o Câncer de Mama

*Camila Maria Simplicio Revoredo  
Bruna Grazielle Mendes Rodrigues  
Geovana Chaves Ximenes de Moraes*

### 12.1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres, no mundo. Em 2018, ocorreram 2,1 milhões de casos novos, o equivalente a 11,6% de todos os cânceres estimados (BRAY et al., 2018). Para o Brasil, estimam-se que 66.280 casos novos de câncer de mama, para cada ano do triênio 2020-2022 (INCA, 2020).

Essa neoplasia caracteriza-se como uma doença heterogênea que se reflete na sua classificação molecular, na morfologia, no curso clínico e na resposta ao tratamento (SEONG et al., 2015). O prognóstico e tratamento do carcinoma mamário são definidos pela localização, idade de apresentação e estadiamento, e ainda fatores de risco que levam em consideração critérios histopatológicos, biológicos e, mais recentemente, moleculares e genéticos (BRASIL, 2018).

Sendo apontados como fatores de riscos que aumentam o risco para o desenvolvimento desta doença, tais como, menarca inferior a 12 anos; menopausa após os 55 anos; mulheres que nunca engravidaram ou nunca tiveram filhos; primeira gestação após os 30 anos de idade; uso de alguns anticoncepcionais e terapia de reposição hormonal na menopausa, especialmente se por tempo prolongado; exposição à radiação ionizante; consumo de bebidas alcoólicas; dietas hipercalóricas; sedentarismo; e predisposição genética (INCA, 2020).

É importante mencionar que a presença destes fatores de risco podem aumentar os níveis de estresse oxidativo celular e conseqüentemente promover danos ao DNA. Assim, um contínuo desequilíbrio entre a superprodução de espécies reativas de oxigênio e a ação de mecanismos antioxidantes reduzida influenciam todas as características do câncer, da instabilidade do genoma ao metabolismo celular, angiogênese, invasão e metástase (COSENTINO et al., 2019).



Tem sido proposto que o câncer de mama pode se desenvolver por meio de diferentes mecanismos, mas começa mais frequentemente com a atividade desequilibrada de vias envolvidas na padronização e na morfogênese dos estágios de desenvolvimento da glândula mamária (VELLOSO et al., 2017).

Nessa perspectiva, o fator nuclear E2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) é um dos mais importantes fatores de defesa celular contra o stress oxidativo. A principal função do Nrf2 é ativar a resposta antioxidante celular através da indução da transcrição de genes capazes de combater os efeitos prejudiciais de insultos extrínsecos e intrínsecos, tais como a xenobióticos e o stress oxidativo. Por esse motivo, Nrf2 tem sido considerado como o principal mecanismo de defesa da célula, e um importante regulador da sobrevivência celular (JARAMILLO; ZHANG, 2013).

Todavia, alguns estudos mostraram que a superexpressão do Nrf2 em células cancerosas pode promover a progressão do tumor (MENG et al., 2017; ZHANG et al., 2018), metástase (ROYOO et al., 2018), e também resistência à quimioterapia e radioterapia (CARLISI et al., 2017; ESMAEILI, 2016; KIM et al., 2008; ZHONG et al., 2013).

Evidências crescentes recentes também têm relacionado o Nrf2 com muitos outros processos moleculares incluindo respostas inflamatórias, reprogramação metabólica, proliferação celular, senescência e sobrevida (KITAMURA; MOTOHASHI, 2018).

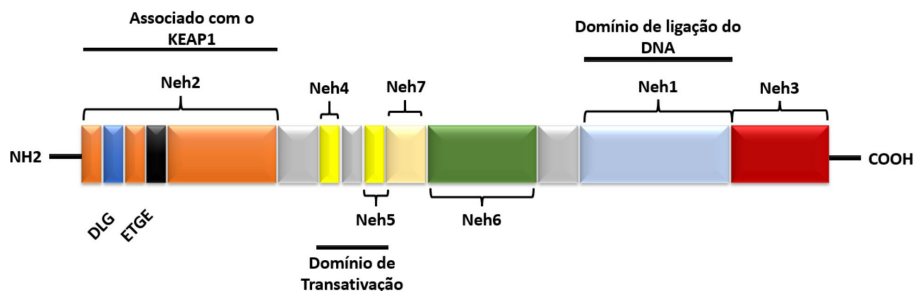
## 12.2 MECANISMO DE AÇÃO

O fator nuclear E2 relacionado ao fator 2 (NRF2) é membro da família cap-n-colar (CNC), com subfamília de fatores de transcrição de zíper de leucina básica (bZIP)8. Localizado no citoplasma celular, o NRF2, se associa a duas proteínas KEAP1, conhecido por ser o inibidor natural desse biomarcador e intermediário para a ligação do complexo CUL3-RBX1, que por sua vez, é responsável pela ubiquitinação do NRF2 para a degradação, a fim de manter as quantidades baixas, fisiologicamente (HAHN et al., 2017).

O gene NRF2 encontra-se localizado no cromossomo 2 (2q31), possuindo sete domínios funcionais conhecidos como Neh1-Nenh7, sendo o Neh2, o de maior destaque por trata-se de ser o maior regulador do domínio. Esse domínio, possui sete resíduos de lisina, que por sua vez, atuam na ubiquitinação, e dois locais de ligação, então chamados de ETGE e DLG, que atuam na manutenção de determinado nível de estabilidade do NRF2 (Figura 1) (COELHO, 2016).

A principal função do NRF2 é ativar a resposta antioxidante celular através da indução da transcrição de genes capazes de combater os efeitos prejudiciais de

insultos extrínsecos e intrínsecos, tais como a xenobióticos e o stress oxidativo (JARAMILLO; ZHANG, 2013).



**Figura 1.** A: Domínios funcionais do gene NRF2.

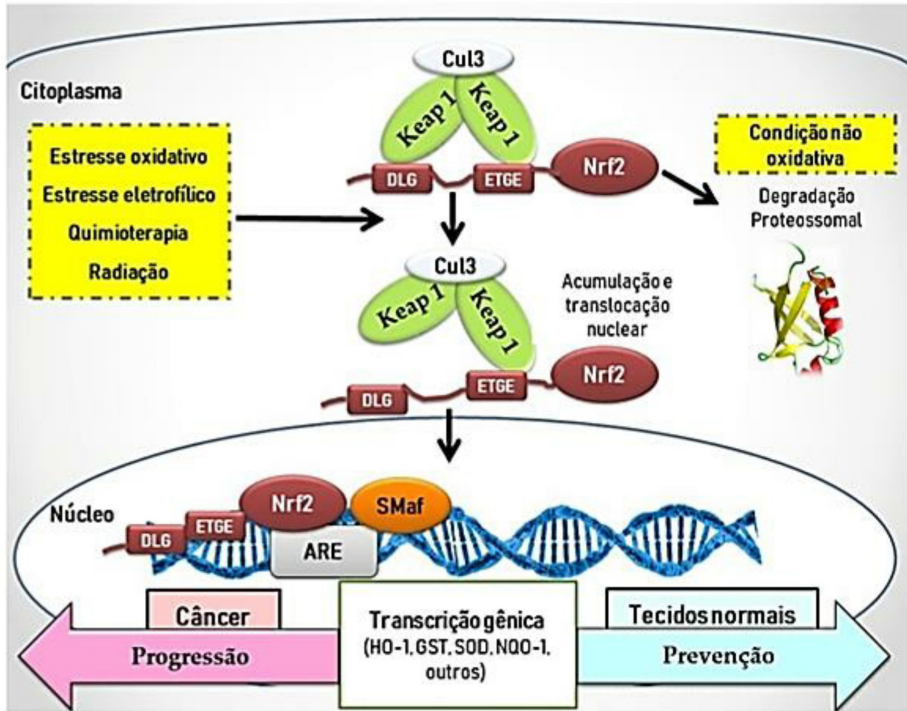
Fonte: Elaboração dos autores.

Em condições basais, o Nrf2 é regulado por uma proteína repressora citosólica chamada proteína 1 associada ao ECH- tipo Kelch (Keap1), que em combinação com outros componentes, promove sua ubiquitinação e degradação proteossomal (SILVA-PALACIOS et al., 2016).

Em situações de estresse oxidativo, ocorre uma alteração na estrutura química da molécula de Keap1 que resulta na libertação do Nrf2 no sítio de ligação de baixa afinidade (DGL). No entanto, o Keap 1 permanece ligado ao Nrf2 pelo ponto ETGE. Consequentemente, as moléculas de Keap1 tornam-se saturadas de Nrf2 que assim não será mais alvo de degradação sendo, então, translocado para o núcleo (JARAMILLO; ZHANG, 2013).

Uma vez no núcleo, o Nrf2 é heterodimerizado com uma proteína conhecida como Maf (fibrosarcoma musculoaponeurótico) e se liga, no DNA, a uma sequência cis-regulatória do elemento de resposta antioxidante (ARE), resultando na ativação da transcrição de diversas enzimas antioxidantes/detoxificantes, como a superóxido dismutase (SOD), heme oxigenase 1 (HO-1), peroxidase 1 (PRX1), NAD(P)H quinona oxireductase 1 (NQO1) e glutamato cisteína ligase (TONELLI et al., 2017). A propósito, o Nrf2 está associado com funções citoprotetoras em diversas condições fisiológicas e patológicas (Figura 2).

O Nrf2 é uma proteína de ação importante no mecanismo de defesa celular, pois é responsável pela ativação de enzimas antioxidantes, reduzindo o stress oxidativo e o risco para o desenvolvimento do câncer de mama (BAUER et al., 2011; KNATKO et al., 2015; LONG et al., 2015; RAMOS-GOMEZ et al., 2001; SEKHAR; FREEMAN, 2015; SHEN et al., 2015; TAO et al., 2015).



**Figura 2.** Papel do Nrf2 na prevenção e na progressão do câncer de mama.

Fonte: Elaboração dos autores.

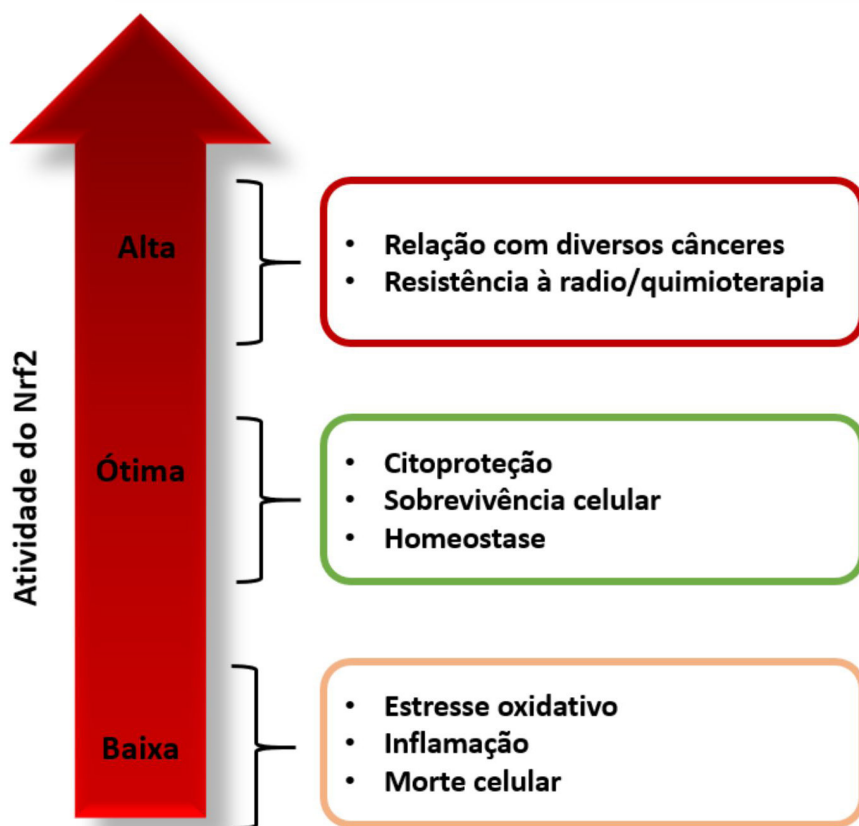
Por outro lado, alguns estudos que mostram que a hiperativação do fator Nrf2 em células cancerosas está relacionado com uma maior agressividade do câncer, como progressão do tumor (MENG et al., 2017; ZHANG et al., 2018), metástase (ROYOO et al., 2018), e também resistência à quimioterapia e radioterapia (CARLISI et al., 2017; ESMAEILI, 2016; KIM et al., 2008; ZHONG et al., 2013).

A ativação ou o acúmulo de Nrf2 promove o crescimento e a proliferação de células cancerígenas, bloqueia a apoptose celular, fortalece a capacidade de auto-renovação das células-tronco cancerígenas, além de aumentar a quimiorresistência e a radiorresistência das células neoplásicas (WU et al., 2018).

### 12.3 AÇÃO DO NRF2 EM TECIDOS SAUDÁVEIS

O biomarcador NRF2 é destacado como regulador da resposta antioxidante no organismo, desempenha funções relacionadas a indução a expressão de genes codificadores de proteínas e enzimas antioxidantes e enzimas da fase II de detoxificação, sendo então peça fundamental para a proteção e sobrevida

celular. Acrescenta-se ainda, a função de modulação da expressão de 200 genes envolvidos em processos relacionados a inflamação, regulação metabólica, proliferação celular, senescência e função mitocondrial (Figura 3) (HAHN et al., 2017).



**Figura 3.** Relação entre atividade do NRF2 e suas consequências no organismo.

Fonte: Elaboração dos autores.

Com o acúmulo no núcleo do NRF2 tem-se a indução de diversos genes citoprotetores, dentre elas NADH (P), quinona oxidoreductase 1 (NQO1) e hemo-oxigenase-1 (HMOX1). Além disso, estudos já apontaram o papel protetor da ativação do NRF2 em doenças como carcinoma, doenças neurodegenerativas, envelhecimento e doenças cardiovasculares, sendo de grande destaque a sua atuação contra os danos genotóxicos causados por agentes cancerígenos (ONODERA et al., 2014).

Para o aumento dos níveis de NRF2 tem-se usado os compostos fenólicos, sendo os mais atuantes, os ortos ou para dihidroxifenóis. Esses dois

tipos de fenólicos tem a capacidade de serem oxidados a quinona, resultando assim, no aumento desse biomarcador. Acrescenta-se ainda a participação dos ácidos graxos ômega 3 de cadeia longa, ácido docosaexanoico (DHA) e ácido eicosapentaenoico (EPA) e os carotenoides no aumento da produção do fator nuclear E2 relacionado ao fator 2 (OLIVEIRA, 2016).

A redução da intensidade da inflamação aguda e a quebra da transformação das condições patológicas agudas em doenças crônicas dar-se através da inativação do KEAP1 e migração do NRF2 para o núcleo, durante o estresse oxidativo, resultando em um complexo de proteínas sMaf (small muscloponeurotic fibrosarcoma), que conseqüentemente, se ligam aos elementos da resposta antioxidante ou elementos da resposta eletrolítica, dando “*start*” na transcrição (SANTOS, 2018).

Deve-se ressaltar também outro mecanismo no qual o NRF2 é capaz de reduzir a inflamação que consiste na capacidade de antagonizar o NF- $\kappa$ B pela remoção de EROS, indiretamente (BARBOSA et al., 2019). Diante disso, durante a inflamação crônica, diversas células imunológicas são continuamente ativadas por mediadores inflamatórios, e quando não ocorre resolução da inflamação, as próprias células recrutadas pelos mediadores inflamatórios secretam mais mediadores inflamatórios, gerando um ciclo vicioso que ativa o NF $\kappa$ B de forma crônica. O ciclo vicioso gerado pela não resolução da inflamação pode ser interrompido pela ativação do Nrf2. De maneira geral, o Nrf2 regula negativamente a transcrição de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão celular, metaloproteinases e outros mediadores inflamatórios, como COX-2 e iNOS, que afetam direta ou indiretamente a ativação do NF $\kappa$ B e de outras rotas que controlam a inflamação (HAHN et al., 2017).

Além disso, há evidências de que existem muitos fitoquímicos com propriedades quimiopreventivas do câncer, exercendo funções antioxidantes e anti-inflamatórias, por meio da ativação da via Nrf2. A quimioprevenção, feita pelos fitoquímicos, foi constatada em diversos estudos. Em um deles realizado foi explorado o potencial anticancerígeno da luteolina, um flavonóide comum derivado de vegetais, frutas e ervas, em células de câncer de cólon humano e a regulação epigenética da via Nrf2/ ERA. Os resultados do estudo mostraram que a luteolina suprimiu a proliferação celular e a transformação celular das células HCT116 (carcinoma colorretal humano) e HT29 (adenocarcinoma do cólon humano) de maneira dose-dependente (ZUO et al., 2018).

Portanto, os fitoquímicos, indutores da via de transcrição Nrf2, exercem efeitos quimiopreventivos favoráveis, por meio de diferentes mecanismos antioxidantes, podendo contribuir para a redução da formação de tumores após a diminuição dos níveis de ERO. Essas ações protegem a célula contra danos oxidativos e inflamatórios, que podem desencadear um possível processo cancerígeno (CAMPOS et al., 2018).

## 12.4 VALOR PROGNÓSTICO POSITIVO DO NRF2 NO CÂNCER DE MAMA

A ação do Nrf2 na inibição do tumor envolve uma rápida modificação enzimática, eliminação das espécies reativas de oxigênio (ROS), excreção de carcinogênicos e/ou envolve a reparação do dano oxidativo através da expressão de seus genes alvo (TAO et al., 2015). Ademais, a superexpressão citoplasmática de Nrf2 pode ser utilizada como preditor da sobrevida de pacientes com carcinoma mamário (ROININEN et al., 2017; URPILAINEN et al., 2019).

A expressão citoplasmática positiva de Nrf2 e expressão nuclear negativa de Keap1 estão associados a resultados desfavoráveis na sobrevida global e na sobrevida específica ao câncer de mama. Concomitante à associação entre a expressão citoplasmática de Nrf2 e marcadores de agressividade, como negatividade do receptor de estrogênio (ER) e receptor de progesterona (PR), alto grau tumoral e índice de proliferação (URPILAINEN et al., 2019).

Tem-se ainda que a expressão do Nrf2 no citoplasma é associada à negatividade do receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) e à positividade de ER, o que sugere um comportamento tumoral pouco agressivo nestas pacientes (ROININEN et al., 2017).

De forma semelhante, foi identificado um papel benéfico significativo dos níveis elevados da expressão do mRNA do Nrf2 no tumor para a sobrevivência de pacientes com tumores mamários ER positivos (KARIHTALA et al., 2011; WOLF et al., 2016). Sugere-se que a regulação hormonal da atividade do Nrf2 pelo ER pode acelerar sua resposta antioxidante para limitar exposição celular ao estresse oxidativo (WU et al., 2014).

Esse mecanismo de defesa teve a sua expressão considerada como um bom fator prognóstico independente para a Sobrevida Livre de Doenças (SLD). Além disso, é existente a correlação negativa entre Nrf2 e HER2, sendo assim, Nrf2 pode ser um marcador de bom prognóstico em pacientes com câncer de mama e que a interação Nrf2- HER2 pode ser um alvo terapêutico promissor para o tratamento do câncer de mama (XIAO et al., 2016).

## 12.5 VALOR PROGNÓSTICO NEGATIVO DO NRF2 NO CÂNCER DE MAMA

O Nrf2 é considerado um importante mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo e embora a ativação transitória desta proteína em resposta ao stress seja benéfica a saúde, sua ativação persistente produz efeitos deletérios, tendo sido recentemente relacionada com o desenvolvimento do câncer, progressão e resistência às terapias (PANIERI et al., 2019).

Contudo, apesar do Nrf2 apresentar um prognóstico positivo em relação ao câncer de mama, existem algumas evidências que relatam que o Nrf2 está relacionado com a proliferação de células cancerígenas, o bloqueio da apoptose celular e o fortalecimento da capacidade de auto renovação das células-tronco cancerígenas, além de aumentar a resistência à quimio e à radioterapia das células neoplásicas (CARLISI et al., 2017; KIM et al., 2008; MENG et al., 2017; RYOO et al., 2018; ZHANG et al., 2018).

Com isso, o aumento da proliferação e migração de células com câncer de mama é de modo proporcional ao aumento a expressão da proteína Nrf2. A superexpressão do Nrf2 em células de câncer de mama MCF7 e MDA-MB-231 contribuiu para a proliferação de células de câncer de mama e formação de tumores. Além disso, o Nrf2 pode promover a progressão do câncer aumentando a glicólise por meio da co-ativação do HIF1 $\alpha$ , implicando que o Nrf2 é um alvo molecular potencial para o tratamento dessa patologia (MENG et al., 2017; ZHANG et al., 2018).

Outro estudo mostrou que o aumento da expressão do Nrf2 foi mediado pela sinalização CD44s-p62 em células tronco de câncer de mama e o alto nível desta proteína contribuiu para a redução dos radicais livres bem como para o desenvolvimento de um fenótipo mais agressivo, incluindo resistência à drogas, formação de colônias, metástase e crescimento tumoral. A proteína Nrf2 estava elevada em subpopulações CD44 altas das linhas celulares de câncer de mama MCF7, MCF7 / ADR e MDA-MB231 quando comparadas a subpopulações CD44low (RYOO et al., 2018).

Em relação às terapias, há relação do Nrf2 com a quimiorresistência. A superexpressão de Nrf2 resultou em resistência aumentada de células MDA-MB-231 a agentes quimioterápicos, como mitoxantrona e doxorrubicina. Assim, também, a resistência ao tamoxifeno em pacientes com câncer de mama foi correlacionada com o aumento da expressão de Nrf2 e outras proteínas antioxidantes (KIM et al., 2008; CARLISI et al., 2017).

## 12.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de mama é a neoplasia mais frequentemente diagnosticada em mulheres em todo o mundo e é a principal causa de morte por câncer neste grupo. Nesse sentido, o fator nuclear 2 relacionado ao eritróide 2 (Nrf2) tem sido alvo de pesquisas a fim de fornecer uma ferramenta prognóstica útil e um possível alvo terapêutico. A análise deste biomarcadores pode fornecer informações adicionais sobre fatores clínicos clássicos e também permitir uma relação risco-benefício mais favorável para que pacientes recebam tratamentos adequados.

Portanto, são necessários mais estudos multicêntricos para verificar o papel do Nrf2 no prognóstico do câncer de mama e assim, torná-lo um parâmetro possível de ser mensurado no momento do diagnóstico e servir como preditor de sobrevida do paciente. É preciso uma maior investigação quanto ao papel de Nrf2, visto que, há poucas literaturas com resultados efetivos abordando o assunto.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. E. et al. Perfil da Expressão do mRNA do Nrf2, NF- $\kappa$ B e PPAR $\beta/\delta$  em Pacientes com Doença Arterial Coronariana. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 113, n. 6, p. 1121-1127, 2019.
- BAUER, A. K. et al. Targeted deletion of Nrf2 reduces urethane-induced lung tumor development in mice. *PLoS One*, v. 6, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria De Atenção À Saúde. **Portaria Conjunta Nº 04, de 23 de Janeiro de 2018.** Aprova as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama.
- BRAY, F. et al. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin*, v.0, p.1–31, 2018.
- CAMPOS, N; CUNHA, M; ARRUDA, S. Tucum-docerrado (*Bactris setosa* Mart.) modulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis-related proteins in rats treated with azoxymethane. *PloSOne*, v. 13, n. 11, 2018.
- CARLISI, D. et al. Parthenolide prevents resistance of MDA-MB231 cells to doxorubicin and mitoxantrone: the role of Nrf2. *Cell Death Discovery*, v. 3, p. 17078-17090, 2017.
- COELHO, A.S.S. **Polimorfismos genéticos KEAP1 rs1048290 e NRF2 rs2886162 e a sua influência na progressão e evolução clínica de doentes com cânceros da mama.** 2016. 76 fs. (Mestrado em Oncologia) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, 2016.
- COSENTINO, G. et al. MicroRNA and Oxidative Stress Interplay in the Context of Breast Cancer Pathogenesis. *Int J Mol Sci*, v. 20, n. 5143, 2019.
- ESMAEILI, M. A. Combination of siRNA-directed gene silencing with epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reverses drug resistance in human breast cancer cells. *J Chem Biol*, v. 9, p. 41–52, 2016.
- HAHN, G.F. et al. O papel do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (NRF2) no diabetes mellitus. *Clin Biomed Res*, v. 37, n. 3, p. 203-213, 2017.



INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ, 2019.

JARAMILLO, M. C.; ZHANG, D. D. The emerging role of the Nrf2–Keap1 signaling pathway in câncer. **Genes & Development**, v. 27, p. 2179–2191, 2013.

KARIHTALA P. et al. Oxidative stress and counteracting mechanisms in hormone receptor positive, triple-negative and basal-like breast carcinomas. **BMC Cancer**, v. 11, p. 262-268, 2011.

KIM, J. Y. et al. The relationship between nuclear factor (NF)- $\kappa$ B family gene expression and prognosis in triplenegative breast cancer (TNBC) patients receiving adjuvant doxorubicin treatment. **Scientific Reports**, v. 6, p.31804, 2016.

KITAMURA, H, MOTOHASHI, H. NRF2 addiction in cancer cells. **Cancer Sci**, v. 109, p. 900-911, 2018.

KNATKO, E. V. et al. Nrf2 activation protects against solar-simulated ultraviolet radiation in mice and humans. **Cancer Prev. Res.**, v. 8, p. 475–486, 2015.

LONG, M. et al. Nrf2-dependent suppression of azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colon carcinogenesis by the cinnamon-derived dietary factor cinnamaldehyde. **Cancer Prev. Res.** v. 8, p. 444–454, 2015.

MENG, C. et al. Propofol induces proliferation partially via downregulation of p53 protein and promotes migration via activation of the Nrf2 pathway in human breast cancer cell line MDA-MB-231. **Oncol Rep**, v. 37, n. 2, p. 841–848, 2017.

OLIVEIRA, L.F.L.V. **Nutrigenômica e qualidade de vida: funções e eficácia de moduladores de NRF2 presentes em suplementos de dieta**. 2016. 28 fs. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2016.

Onodera Y. et al. NRF2 immunolocalization in human breast cancer patients as a prognostic factor. **Endocr Relat Cancer**, v. 21, p. 241-252, 2014.

PANIERE, E; SASO, L. Potential Applications of NRF2 Inhibitors in Cancer Therapy, **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2019.

RAMOS-GOMEZ, M. et al. Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 98, p. 3410–3415, 2001.

ROININEN N, HAAPASAARI KM, KARIHTALA P. The Role of Redox-Regulating Enzymes in Inoperable Breast Cancers Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2017.

RYOO, I. G. et al. High CD44 expression mediates p62-associated NFE2L2/NRF2 activation in breast cancer stem cell-like cells: Implications for cancer stem cell resistance. **Redox Biology**, v. 17, p. 246–258, 2018.

SANTOS, A. A. **Desenvolvimento de modelo de dor pós-incisional persistente para investigação da via Keap1/Nrf2/elementos de resposta antioxidante**. 2018. 40 f., il. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

SEKHAR, K. R.; FREEMAN, M. L. Nrf2 promotes survival following exposure to ionizing radiation. **Free Radic. Biol. Med.** v. 88, p. 268–274, 2015.

SEONG, M. K. et al. Bcl-2 is a highly significant prognostic marker of hormone-receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 150, n. 1, p.141–148, 2015.

SHEN, T. et al. A curcumin derivative that inhibits vinyl carbamate-induced lung carcinogenesis via activation of the Nrf2 protective response. **Antioxid. Redox Signal.** 23, 651–664, 2015.

SILVA-PALACIOS, A.; KONIGSBERG, M.; ZAZUETA, C. Nrf2 signaling and redox homeostasis in the aging heart: A potential target to prevent cardiovascular diseases? **Ageing Research Reviews**, v. 26, p. 81-95, 2016.

TAO, S. et al. Systemic administration of the apocarotenoid bixin protects skin against solar UV-induced damage through activation of NRF2. **Free Radic. Biol. Med.** v. 89, p. 690–700, 2015.

TONELLI, C.; CHIO, C.; TUVESON, D. A. Transcriptional Regulation by Nrf2. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 00, n. 00, p. 1-19, 2017.

URPILAINEN E. et al. Metformin diminishes the unfavourable impact of Nrf2 in breast cancer patients with type 2 diabetes. **Tumor Biology**, v. 41, p. 1-10, 2019.

VELLOSO, F. J. et al. The crossroads of breast cancer progression: insights into the modulation of major signaling pathways. **Onco Targets Ther**, v. 10, p. 5491–5524, 2017.

WOLF B. et al. Reduced mRNA expression levels of NFE2L2 are associated with poor outcome in breast cancer patients. **BMC Cancer**, v. 16, p. 821-835, 2016.

WU S, LU H, BAI Y. Nrf2 in cancers: A double-edged sword. **Cancer Medicine**, v. 8, p. 2252-2267, 2019.

XIAO Y. et al. Prognostic value of NRF2 in breast cancer patients and its role as a tumor suppressor by directly inhibiting HER2 expression. **Int J Clin Exp Pathol.**, v.9, p. 4292-4306, 2016.

ZHANG, H. S. et al. NRF2 facilitates breast cancer cell growth via HIF1 $\alpha$ - mediated metabolic reprogramming. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 95, p. 85-92, 2018.

ZHONG, Y. et al. Drug resistance associates with activation of Nrf2 in MCF-7/DOX cells, and wogonin reverses it by down regulating Nrf2-mediated cellular defense response. **Molecular Carcinogenesis**, v. 52, p. 824–834, 2013.

ZUO, Q. et al. The dietary flavone luteolin epigenetically activates the Nrf2 pathway and blocks cell transformation in human colorectal cancer HCT116 cells. **J Cell Biochem.**, v. 119, n. 11, p. 9573-9582, 2018.

# Capítulo 13

## P53 e o Câncer de mama

*Fabiane Araújo Sampaio*

*Edinara Costa*

### 13.1 INTRODUÇÃO

A P53 é uma proteína supressora de tumor, no qual sua relação com o câncer tem sido amplamente estudada, pois mais de 50% dos tumores humanos contém mutações Tp53, além disso, a p53 como fator de transcrição regula a expressão de genes em células submetidas a estresse. A p53 se liga tanto aos locais-alvo específicos da sequência no DNA linear, quanto nas estruturas locais do DNA, todos esses dados de ligação da p53 nessas estruturas influenciam nas atividades dessa proteína (BRÁZDA; COUFAL, 2017).

A p53 foi descrita pela primeira vez em 1979, sendo considerado um oncogene e primeiro gene supressor de tumor a ser identificado. Essa proteína tem como função impedir o desenvolvimento neoplásico por meio da inibição e eliminação da proliferação de células anormais. Em condições celulares normais, sua via de sinalização está no modo de espera, a ativação ocorre em resposta ao estresse celular, algumas de suas vias de ativação também dependem de quinases. A ativação leva ao aumento dos níveis de p53, além disso, a proteína do tipo selvagem adquire atividade de ligação ao DNA específica da sequência (GASCO et al., 2002).

É considerada como um importante biomarcador no câncer de mama e atua como guardião do genoma, está presente no cromossomo 17p, podendo regular ou ativar a apoptose quando há estresse ou danos no DNA, entretanto, quando há mutação no gene não ocorre apoptose e regulação do ciclo celular. A p53 desempenha papel importante na regulação do destino celular em resposta a tensões como alterações no DNA induzida por irradiação, carcinógenos, hipóxia, ativação de oncogene, depleção de nucleotídeos, entre outros (LACROIX; TOILLON; LECLERCQ, 2006).

Essa proteína tem capacidade de atuar no fator de transcrição, além disso, exerce ação antiproliferativa ao induzir a apoptose e pode melhorar o reparo do DNA e inibir a angiogênese, também possui funções no desenvolvimento de tecidos normais e na resposta à inflamação. O papel da p53 no câncer de mama

tem sido alvo de diversos estudos e debates, pois a mutação da proteína é um importante marcador de doença agressiva e resposta a terapia (AHSAN et al., 2016; BAKER et al., 2010).

Diversos estudos demonstraram que há genes envolvidos na carcinogênese do câncer de mama, entre esses genes está o p53, o gene de fator de transcrição, e este tem sido mutado com mais frequência, sendo assim, a p53 é considerada uma das principais moléculas que impedem o desenvolvimento do câncer de mama, além de outros tipos de câncer. O objetivo do desenvolvimento de terapias para o câncer que envolvem a p53 é reconstituir a rede de sinalização p53, indispensável para a operação do sistema de supressão de tumor regulado por essa proteína (MIYAMOTO et al., 2017).

A correlação do gene p53 com o prognóstico de diversos tipos de câncer é bem demonstrada em diversos estudos, as reações químicas do gene podem aumentar a expressão da proteína ou causar uma mutação. O p53 é um importante regulador do crescimento celular e está envolvido na evolução das neoplasias, sendo responsável por identificar células que possuem alterações no DNA, bloqueando o ciclo na fase G1 e colocando a célula lesada na fase G0, nesta ocasião promove o reparo da célula e a encaminha outra vez para o ciclo ou na impossibilidade, promove sua apoptose (RODRIGUES et al., 2008).

### 13.2 ESTRUTURA DA P53 E MECANISMO DE AÇÃO NO CÂNCER DE MAMA

A p53 é uma das proteínas mais ativadas durante o processo de apoptose, é capaz de responder estresses celulares como danos no DNA, estresse oxidativo, ativação do oncogene e hipóxia. Após sua ativação, inicia várias atividades celulares na qual podem resultar na parada do ciclo celular G1 ou G2, reparo celular, apoptose, entre outras alterações. A p53 tem papel direto na manutenção da integridade do genoma, e a perda da atividade da proteína é associada à progressão e prognóstico desfavorável do tumor (FAN; CHERIAN, 2002).

A sua estrutura é constituída por 393 aminoácidos, sua forma ativa funcionalmente possui quatro subunidades básicas iguais que se juntam e formam uma estrutura molecular tetramérica, na qual é a forma funcionalmente ativa da molécula. Essa proteína é identificada como guardião do genoma pois ela monitora a integridade do genoma e impede que haja proliferação de células com DNA mutado. O gene p53 é ativado e leva a transcrição da proteína em casos como lesão no DNA (JÚNIOR et al., 2002).

A ativação de p53 tem como consequência, a expressão de genes efetores como MDM2, p21 e p27, sendo que a atividade biológica da p53 é controlada pela proteína MDM2, visando a destruição. A p21 e p27 agem como inibidores

da quinase dependente de ciclina, com o intuito de interferir na sinalização da fase S. A alta expressão de p21 pode estar relacionada com a sobrevida curta livre de recidiva no câncer de mama (BALL et al., 2001).

A via da p53 pode ser inativada por diferentes mecanismos e essa inativação leva ao câncer. O mecanismo mais comum é a mutação missense da p53, especialmente no domínio de ligação ao DNA, que resulta na alteração da capacidade da p53 se ligar ao DNA. Além disso, o p53 pode ser inativado por meio da exclusão de alelos de p53, mutações do tipo nonsense ou no domínio de oligomerização, amplificação do gene MDM2 ou localização incorreta de p53 no citoplasma. Outro mecanismo citado em estudos recentes é o papel das isoformas truncadas no terminal N na inativação da p53, algumas isoformas da proteína conseguem alterar a especificidade de outros genes que modulam a função de p53, no qual podem levar ao efeito dominante negativo ou ganho de função (VIELER; SANYAL, 2018).

A p53 é vista como um alvo para modificações como fosforilação, acetilação e ubiquitinação. Ela pode ser gerada por sinais como radiação ultravioleta, hipóxia, bloqueio de transcrição, sinalização de oncogene, radiação ionizante e falta de nucleotídeos, e a partir disso induz a parada do ciclo celular, a apoptose, bloqueio da angiogênese e reparo do DNA. Qualquer perda na função dessa proteína pode contribuir com o desenvolvimento do câncer, devido seu papel na prevenção do crescimento tumoral em vários pontos do processo de malignidade, essa função se perde de diferentes formas, a mais comum é quando há a perda da região comossômica que contém um alelo do gene e mutações no outro alelo. A maioria dos cânceres humanos possui um gene p53 mutado, associado ao câncer devido a perda de função, efeitos dominantes negativos e ganho de função (TALIB et al., 2018).

O supressor tumoral p53, codificado pelo gene TP53, é o gene mais comumente silenciado ou mutado no câncer. Em condições normais, os níveis de p53 são baixos e, em alguns casos, indetectáveis. No entanto, em sinais de estresse como danos no DNA, a p53 ativada causa uma variedade de respostas, incluindo a apoptose, fornecendo uma barreira crítica contra o desenvolvimento do tumor (BAE et al., 2018).

Vale destacar que mutações somáticas no TP53 são comuns em câncer de mama, compreende 80% dos casos e estão associados ao pior prognóstico e baixa resposta à quimioterapia (BRETON et al., 2005). Embora a maioria das mutações no p53 resulte em inativação ou disfunção de p53, algumas mutações no p53 levam à perda seletiva de funções apoptóticas, mantendo a capacidade de induzir o ciclo celular do tumor (WANG et al., 2015).

Segundo Bellazo et al. (2018), a utilização da mutação TP53 como fator prognóstico é inconsistente porque apesar do significado da mutação ser

identificada na fase de pesquisa básica, a interpretação de seus resultados são complexas para aplicações clínicas. Por outro lado, a análise da expressão de p53 como produto proteico é facilmente detectado por coloração imunohistoquímica (WANG et al., 2015).

No estudo de Coates et al. (2012) avaliaram 1113 pacientes com linfonodos negativos com câncer de mama e verificaram que a expressão de p53 foi associada ao pior prognóstico em tumores ER (+), enquanto os tumores ER (-) foram associados a um bom prognóstico. Embora a detecção imuno-histoquímica da proteína p53 não reflita com precisão a mutação TP53, alguns estudos revelam correlação entre eles (BROSH; ROTTER, 2009; PETITJEAN, 2007).

### 13.3 MUTAÇÕES NO GENE p53

O p53 é um importante gene que codifica a proteína p53 e está expresso na maioria das células, sua ativação leva a indução ou repressão de diversos genes que estão envolvidos na regulação do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose. No câncer de mama, essa mutação causa as alterações mais comuns e suprime as funções reguladoras da proteína. Estudos demonstram que o padrão das mutações pode variar de acordo com a localização geográfica, etnia e fatores ambientais, no qual a exposição ambiental específica da população ou fatores endógenos podem desempenhar um papel nessa variação. Atualmente, existem dois tipos do gene p53: o tipo selvagem, no qual está presente em todos os tecidos em proliferação, regeneração e determinação da via apoptótica e o gene do tipo mutante (PAVEL et al., 2009; LOSKUTOVA et al., 2014).

As mutações no TP53 são mais frequentes no câncer de mama triplo negativo, que se refere ao tipo de tumor que não apresenta nenhum dos três biomarcadores mais empregados na classificação, o receptor de estrógeno, receptor de progesterona e proteína HER-2. No câncer de mama as mutações no TP53 são consideradas como um fator prognóstico negativo, tumores com essa mutação são mais propensos a serem agressivos e possui associações com a quimiorresistência. Além disso, o TP53 é um gene polimórfico, e suas alterações podem afetar a função da proteína p53, aumentando o risco de câncer, a progressão e a resposta ao tratamento, no entanto esse papel no câncer de mama ainda precisa ser mais esclarecido (HUSZNO, GRZYBOWSKA, 2018).

A mutação do p53 é uma das anormalidades genéticas mais encontradas em tumores malignos de humanos, no gene mutado a proteína p53 permanece inativa, interrompendo assim o mecanismo de reparo de defeitos genéticos e a possibilidade de eliminar a apoptose de células que apresentam o DNA danificado. A proteína p53 possui dois domínios de transativação do terminal N, um domínio rico em prolina, um domínio de ligação ao DNA, um terminal C que é responsável

por codificar seus sinais de localização nuclear e um domínio de oligomerização, importante para a atividade transcricional, assim a grande maioria das mutações do TP53 ocorre no domínio de ligação ao DNA, essa região é a mais importante para estabilizar a estrutura terciária da proteína p53. Em relação aos outros domínios, somente 2% das mutações ocorrem no terminal N e C. (PASTUSZEWSKI et al., 2007; KASTENHUBER; LOWER, 2017; PELTONEN et al., 2010).

A mutação nos genes p53 provoca a formação de proteínas mais estáveis que se acumulam e podem ser analisadas por imuno-histoquímica, seus níveis são regulados de formas diferentes, além disso, esse gene codifica várias isoformas da proteína p53 e a mutação no gene Tp53 tem sido considerado como um acontecimento precoce na origem do tumor na mama. Grande parte das mutações levam a substituições únicas de aminoácido resultando na expressão da proteína p53 de forma mutante, o gene mutante pode causar efeitos dominantes negativos sobre o p53 selvagem e também adquirir ganho de funções oncogênicas (DING et al., 2017).

As modificações que ocorrem no gene p53 como proteína do tipo selvagem ou mutante, possuem grande influência na sua localização citoplasmática ou nuclear, nas funções, interações celulares com seus alvos e vida útil gene. Estudos demonstram que as mutações podem ocorrer em quase todos os códons dos domínios de ligação ao DNA e em outros domínios da p53, em células cancerígenas, porém, não é muito esclarecido como essas diferentes mutações podem afetar a progressão do câncer na perda da função da p53 do tipo selvagem, em mutações dominantes negativas e no ganho de fenótipos de função (IDIKIO, 2010; FANG et al., 2018).

#### 13.4 RELAÇÃO ENTRE P53 E METALOTIONEÍNA

Estudos indicam que há uma forte relação entre p53 e MT, pois a alta expressão de MT nos tumores é associada a presença de p53 mutado e ao crescimento do grau do tumor, além disso a MT é capaz de regular a atividade de ligação ao DNA da p53 por meio da transferência do zinco. A apo-MT, considerada a forma livre de metal da MT, pode sequestrar e diminuir a atividade de transcrição do p53 (OSTRAKHOVITCH et al., 2006).

Bezerra et al. (2018) diz que as moléculas de metalotioneína podem inativar a proteína p53, pois é capaz de remover os íons de zinco da proteína, o que leva a sua inatividade, a inativação dessa proteína em células neoplásicas tem como consequência a proliferação excessiva e a inibição dos processos apoptóticos. A MT pode ser um mecanismo de controle que regula a atividade da p53, podendo controlar o nível do íon zinco no meio celular e modular a atividade funcional da proteína p53, além disso, pode remover o zinco da p53. Os íons de



zinco são essenciais para manter a conformação e estabilidade da p53 do tipo selvagem e sua afinidade por uma sequência específica de DNA (WISHEREK et al., 2008).

A expressão aumentada da metalotioneína no tumor de células pode promover o aumento da proliferação, grau do tumor e sobrevivência de células através da desestabilização e inativação da p53, proteína responsável pela inibição da mitose celular e reparo no DNA alterado, se esta não for eficiente o processo de apoptose é suprimido. Além disso, tem sido relatado o controle da atividade da p53 pela MT, o papel da p53 na ativação do gene da MT e que a falta de metal na MT pode interromper a atividade de ligação ao DNA da p53 por meio do zinco, no qual leva a sua inativação não mutacional, assim a superexpressão da MT pode prejudicar a função da p53, facilitando a carcinogênese e a progressão do tumor (ALAM; KELLEHER, 2012; CARDOSO et al., 2009).

### 13.5 INFLUÊNCIA DO ZINCO NA P53

A p53 possui um domínio de ligação ao DNA por meio do zinco, um íon necessário para o funcionamento ativo da p53 do tipo selvagem. A estrutura nativa da p53 é interrompida sem o zinco, produzindo propriedades fracas e inespecíficas de ligação ao DNA, que resulta na transformação celular. Já o excesso de zinco produz monômeros p53 dobrados que resulta em precipitação agregada irreversível de p53 e a um fenótipo de transformação celular devido a ausência da função da proteína p53 (THEOCHARIS et al., 2003; ATRIAN; CAPDEVILA, 2013).

O zinco é exigido por diversas proteínas que são fatores de transcrição, como a p53. A indução dos níveis de p53 regula funções relacionadas ao reparo do DNA, regula o ponto de verificação do ciclo celular e induz a apoptose, implicando a resposta das células normais aos danos no DNA. Em resposta a esses danos, o p53 intervém a parada do ciclo celular da fase G1, no qual induz a transcrição do inibidor da quinase, desencadeando a apoptose. A deficiência de zinco leva ao aumento do dano oxidativo ao DNA, a quebra de cromossomos, o aumento da expressão de p53 em resposta a danos do DNA e prejudica a capacidade do p53 de se ligar ao DNA. A ligação da p53 ao DNA é efetivado pelo íon Zn, no qual é necessário para manter sua função ativa (ALAM; KELLEHER, 2012).

Alguns estudos demonstram que o domínio de ligação ao zinco na proteína pode funcionar como um sensor para os níveis de metais na célula, além disso, alterações nos níveis intracelulares de metais podem afetar a p53, a perda de zinco intracelular pode causar uma alteração na conformação da proteína p53, levando a perda da capacidade de ligação ao DNA, alguns íons metálicos, como o cádmio, também competem com o zinco e assim inativam a função da p53 em

células intactas estimulando a mudança da proteína para uma conformação do tipo mutante (MÉPLAN et al., 2000).

O zinco afeta de forma direta a ligação de p53, visto que a deficiência de zinco impede que o complexo funcional de p53-DNA seja formado para a transcrição de genes. O aumento do teor de proteína p53 em resposta a deficiência de zinco, pode resultar de um estímulo negativo mediado pela diminuição da transcrição de genes regulados pela p53 com o intuito de manter a sua ativação, danos no DNA devido a falta de zinco também pode causar o aumento das concentrações de p53 (GRATTAN; FREAKE, 2012).

### 13.6 P53 COMO BIOMARCADOR DE CÂNCER DE MAMA

Nos últimos anos, a busca por biomarcadores que possam prever o prognóstico de pacientes com câncer de mama tem aumentado significativamente, com o intuito de avaliar fatores prognósticos como características histológicas, tamanho do tumor, idade, status dos receptores de hormônios esteróides e status de linfonodos. Um desses biomarcadores é o p53, muitas alterações tem sido investigadas e sugerem que o gene p53 é o gene supressor de tumor com um grande número de mutação na malignidade humana, sendo que 30% dos cânceres de mama tem mutação p53, essa mutação pode representar um evento precoce no progresso do tumor, além disso, estimula a proliferação celular e torna o fenótipo agressivo (PAN et al., 2017).

A detecção do câncer de mama precoce é essencial para o prolongamento da vida de indivíduos com o câncer, pois o estágio da doença possui relação com a sobrevivência. Estudos demonstram que o biomarcador p53 tem sido usado principalmente para investigar a eficácia da quimioterapia no câncer de mama, devido o aumento da proteína quando ocorre dano tumoral, os níveis salivares de p53 são 25% menores em pacientes com câncer de mama comparados a indivíduos saudáveis, além disso, como o gene p53 mutado induz o acúmulo da proteína no núcleo das células tumorais, a coloração imunohistoquímica pode ser usada para detectar as mutações (SAUTER, 2017; NEMEIER et al., 2019; LEE et al., 2011).

A p53 possui propriedades físico-químicas como sua não biodegradabilidade e seu acúmulo nos núcleos celulares, essas propriedades da proteína são produzidas pelo gene mutante Tp53, além disso, são diferentes do tipo selvagem, no qual forma uma base para a avaliação usando medidas imunohistoquímicas. Quando há imunocoloração forte e difusa de p53 é provável de ter uma mutação no gene Tp53. Apesar de sua significância, o prognóstico da mutação do Tp53 de forma isolada, ainda não é suficiente para determinar e afetar as decisões clínicas que envolvem o câncer de mama ou outros tipos de câncer,

principalmente devido ao fato de que existem muitas maneiras pelas quais uma célula cancerígena pode bloquear a atividade do p53 e reter o gene selvagem (ABUBAKAR et al., 2019; GRAWENDA et al., 2015).

## REFERÊNCIAS

ABUBAKAR, M. et al. Clinicopathological and epidemiological significance of breast cancer subtype reclassification based on p53 immunohistochemical expression. **NPJ Breast Cancer**, v. 20, 2019.

AHSAN, F. et al. Current and emerging biomarkers in breast cancer and influence of diet on their activities. **Pakistan Journal of Food Sciences**, v. 26, n. 3, p. 129-135, 2016.

ALAM, S; KELLEHER, S.L. Cellular Mechanisms of Zinc Dysregulation: A Perspective on Zinc Homeostasis as an Etiological Factor in the Development and Progression of Breast Cancer. **Nutrients**, v. 4, n.1, p. 875-903, 2012.

ATRIAN, S. CAPDEVILA, M. Metallothionein-protein interactions. **BioMol Concepts**, v. 4, n. 2, 2013.

BAE, S. Yet al. Differences in prognosis and efficacy of chemotherapy by p53 expression in triple-negative breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v.172, n.2, p.437-444, 2018.

BAKER, L. et al. p53 mutation, deprivation and poor prognosis in primary breast cancer. **British Journal of Cancer**, v. 102, p. 719-726, 2010.

BALL, H.M. et al. Differential p53 protein expression in breast cancer fine needle aspirates: the potential for in vivo monitoring. **British Journal of Cancer**, v. 85, n. 8, p. 1102-1105, 2001.

BELLAZZO, A. et al. Complexes formed by mutant p53 and their roles in breast cancer. **Breast Cancer - Targets and Therapy**, v.10, n.1, p.101-112, 2018.

BEZERRA, G. M. R. et al. Nuclear metallothionein in oral squamous cell carcinoma: clinicopathological parameters and patient survival. **Braz. Oral. Res**, v. 32, 2018.

BRÁZDA, V; CLOUFAL, J. Recognition of local DNA structures by p53 protein. **International Journal of Molecular Sciences**, v.18, 2017.

BROSH, R; ROTTER, V. When mutants gain new powers: news from the mutant p53 field. **Nat Rev Cancer**, v.9, n.10, p.701-13, 2009.

CARDOSO, S. V. et al. Expression of Metallothionein and p53 Antigens are Correlated in Oral Squamous Cell Carcinoma. **Anticancer Research**, v. 29, p. 1189-1194, 2009.

COATES, A.S. et al. Prognostic interaction between expression of p53 and estrogen receptor in patients with node-negative breast cancer: results from IBCSG Trials VIII and IX. **Breast Cancer Res**, v.161, n.3, p.409-420, 2012.

DING, L. et al. Comparative study of Her-2, p53, Ki-67 expression and clinicopathological characteristics of breast cancer in a cohort of northern China female patients. **Bioengineered**, v. 8, n. 4, p. 383-392, 2017.

FAN, L. Z; CHERIAN, M; G. Potential role of p53 on metallothionein induction in human epithelial breast cancer cells. **British Journal of Cancer**, v. 87, p. 1019-1026, 2002.

FANG, L. et al. Enhanced breast cancer progression by mutant p53 is inhibited by the circular RNA circ-Ccnb1. **Cell & Death Differentiation**, v. 25, p. 2195-2208, 2010.

GASCO, M; SHAMI, S; CROOK, T. The p53 pathway in breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 4, n. 2, 2002.

GRATTAN, B. J; FREAKER, H. C. Zinc and Cancer: Implications for LIV-1 in Breast Cancer. **Nutrients**, v. 4, p. 648-675, 2012.

GRWENDA, A. M. et al. Interaction between p53 Mutation and a Somatic HDMX Biomarker Better Defines Metastatic Potential in Breast Cancer. **Cancer Research**, v. 75, n. 4, 2015.

HUSZNO, J; GRZYBOWSKA, E. TP53 mutations and SNPs as prognostic and predictive factors in patients with breast cancer (Review). **Oncology Letters**, v. 16, p. 34-40, 2018.

IDIKIO, H. A. Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology: contributions of protein life-cycle, use of evidence-based methods and data normalization on interpretation of immunohistochemical stains. **Int. J. Clin. Exp. Pathol**, v. 3, n. 2, p. 169-176, 2010.

JÚNIOR, G. B. C; KLUMB, C. E; MAIA, R. C. P53 e hemopatias malignas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 419-427, 2002.

KASTENHUBER, E. R; LOWER, S. W. Putting p53 in Context. **Cell**, p. 1062-1078, 2017.

LACROIX, M; TOILLON, R. A; LECLERCQ, G. p53 an breast cancer, an update. **Endocrine-Related Cancer**, v. 13, p. 293-325, 2006.

LACROIX, M; TOILLON, R. A; LECLERCQ, G. P53 and breast cancer, an update. **Endocrine-related Cancer**, v. 13, p. 293-325, 2006.

LEE, D. S. et al. Clinical Implication of p53 Overexpression in Breast Cancer Patients Younger than 50 Years with a Triple-negative Subtype Who Undergo a Modified Radical Mastectomy. **JPN J. Clin. Oncol**, v. 41, n. 1, p. 854-866, 2011.

LOSKUTOVA, K. S. et al. Immunohistochemical Study of Apoptotic Marker p53 as a Prognostic Factor in Breast Cancer. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 158, n. 1, 2014.

MÉPLAN, C. et al. Metalloregulation of the tumor suppressor protein p53: zinc mediates the renaturation of p53 after exposure to metal chelators in vitro and in intact cells. **Oncogene**, v. 9, p. 5227-5236, 2000.

MIYAMOTO, T. et al. Identification of p53-repressed gene module in breast cancer cells. **Oncotarget**, v. 8, n. 34, p. 55821-55836, 2017.

NEMEIR, I. A. et al. The Advent of Salivary Breast Cancer Biomarker Detection Using Affinity Sensors. **Sensors**, v. 19, n. 10, 2019.

OSTRAKHOVITCH, E.A. et al. Interaction of metallothionein with tumor suppressor p53 protein. **FEBS Lett**, v.580, n.5, p.1235-8, 2006.

PAN, Y. et al. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triplenegative breast cancer patients. **Plos One**, v. 12, n. 2, 2017.

PASTUSZEWSKI, W. et al. Prognostic Significance of Metallothionein, p53 Protein and Ki-67 Antigen Expression in Laryngeal Cancer. **Anticancer Research**, v. 27, 335-342, 2007.

PAVEL, J. R. R et al. Mutations in p53, p53 protein overexpression and breast cancer survival. **J. Cell. Mol. Med**, v. 13, n. 9B, p. 3847-3857, 2009.

PELTONEN, J. K. p53 in head and neck cancer: Functional consequences and environmental implications of TP53 mutations. **Head & neck Oncology**, v. 2, n. 36, 2010.

PETITJEAN, A. et al. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. **Oncogene**, v.26, n.15, p.2157-65, 2007.

RODRIGUES, R. B. et al. Valor prognóstico da correlação imunoistoquímica do Ki-67 e p53 em carcinomas epidermóides da laringe. **Rev. Bras.Otorrinolaringol**, v. 74, n. 6, p. 855-859, 2008.

SAUTER, E. R. Reliable Biomarkers to Identify New and Recurrent Cancer. **Eur J Breast Health**, v. 12, p. 162-167, 2017.

TALIB, W. H. et al. Role of curcumin in regulating p53 in breast cancer: an overview of the mechanism of action. **Breast Cancer - Targets & Therapy**, v. 10, p. 207- 217, 2018.

THEOCHARIS, S. E; MARGELI, A. P; KOUTSELINIS, A. Metallothionein: A multifunctional protein from toxicity to cancer. **The International Journal of Biological Markers**, v. 18, n.3, p.162-169, 2003.

VIELER, M; SANYAL, S. p53 Isoforms and Their Implications in Cancer. **Cancers**, v. 10, 2018.

WANG, X; SIMPSON, E.R; BROWN, K.B. p53: Protection against Tumor Growth beyond Effects on Cell Cycle and Apoptosis. **Cancer Research**, v.75, n.23, p.5001-7, 2015.

WISHEREK, M. D; SIKORA, J; TOMASZEWSKA, R. The possible biological role of metallothionein in apoptosis. **Frontiers in Biosciences**, v. 13, p. 4029-4038, 2008.



## BIOMARCADORES NO CÂNCER DE MAMA

Que esse livro contribua com o ensino e a aprendizagem das Ciências da Saúde. A colaboração de vários docentes e pesquisadores com experiência acadêmica e profissional permitiu que os temas abordados nessa obra incorporassem os avanços da área. Convidamos todos a participarem das nossas reflexões acerca dos biomarcadores no câncer de mama.



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ



ISBN: 978-65-5904-005-6



9 786559 040056