

REVISTA TÓPICOS

ALTERAÇÕES EPIGENÉTICAS NO PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS

DOI: 10.5281/zenodo.10392735

Thais Albuquerque Bertolino¹

Larissa Teodoro Rabi²

RESUMO

Os mecanismos epigenéticos estão entre os principais reguladores dos múltiplos aspectos da biologia molecular do câncer de mama. A epigenética atua por meio de vias que proporcionam a regulação de genes-chave na proliferação, diferenciação e apoptose celular, bem como na capacidade de invasão e escape do sistema imunológico. O artigo visa elucidar os mecanismos epigenéticos no contexto fisiológico e sua influência no desenvolvimento de neoplasias mamárias. Trata-se de uma revisão da literatura, na qual foram utilizados artigos disponíveis na base de dados PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde. Os descritores utilizados foram “Epigenômica”, “Epigenética”, “neoplasias mamárias” e “carcinoma mamário humano”, devidamente cadastrados no DeCs/MeSH. Os resultados revelaram que as principais alterações epigenéticas no câncer de mama envolvem a metilação do DNA, a modificação estrutural da cromatina e a síntese aberrante de RNAs não codificantes. Alguns autores correlacionam a alteração no padrão de metilação do DNA com a ativação

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

de vias celulares que possibilitam a proliferação e migração de células cancerosas. Outras pesquisas relatam o papel de receptores de estrógeno no recrutamento de enzimas modificadoras da cromatina, que condicionam a transcrição de genes favoráveis ao desenvolvimento tumoral. Adicionalmente, observou-se que a produção de miRNAs disfuncionais, com destaque para os miRNAs, atuam na transição epitelial-mesenquimal de células da mama, proporcionando um perfil de células indiferenciadas, que possuem alto poder de renovação. Portanto, é notável que os mecanismos epigenéticos possuem uma importante correlação na carcinogênese mamária, podendo ser utilizados como potencial ferramenta na elaboração de biomarcadores diagnósticos e na formulação de terapias personalizadas.

Palavras-chave: Epigenética. Neoplasias mamárias. Epigenômica.

ABSTRACT

Epigenetic mechanisms are among the main regulators of multiple aspects of the molecular biology of breast cancer. Epigenetics works through pathways that regulate key genes in cell proliferation, differentiation and apoptosis, as well as in the ability of the immune system to invade and escape. The article aims to elucidate the epigenetic mechanisms in the physiological context and their influence on the breast neoplasms' development. This is a literature review, in which articles available in the PubMed database and the Virtual Health Library were used. The descriptors used were "Epigenomics", "Epigenetics", "breast neoplasms" and "human breast carcinoma", duly registered in the DeCs/MeSH. The results revealed that the main epigenetic changes in breast cancer involve DNA

REVISTA TÓPICOS

methylation, structural modification of chromatin and aberrant synthesis of non-coding RNAs. Some authors correlate the change in the DNA methylation pattern with the activation of cellular pathways that enable the proliferation and migration of cancer cells. Other studies report the role of estrogen receptors in the recruitment of chromatin-modifying enzymes, which condition the transcription of genes favorable to tumor development. Additionally, it was observed that the production of dysfunctional miRNAs, especially miRNAs, act in the epithelial-mesenchymal transition of breast cells, providing a profile of undifferentiated cells, which have high renewal potential. Therefore, it is notable that epigenetic mechanisms have an important correlation in breast carcinogenesis, and can be used as a potential tool in the development of diagnostic biomarkers and in the formulation of personalized therapies.

Keywords: Epigenetic. Breast Neoplasms. Epigenomic.

INTRODUÇÃO

A epigenética se apresenta, atualmente, como um braço derivativo da biologia molecular, trazendo complementariedade às pesquisas que envolvem a compreensão da maquinaria genética. É um campo que possui grande potencial exploratório no que diz respeito aos estudos dos genes e de seus produtos, e como esses elementos atuam na formação e manutenção de um indivíduo. Ela vem sendo esmiuçada para construir conceitos e explicações antes não esclarecidos, que por muitos anos sustentaram alguns mistérios da performance genética nos organismos multicelulares. (Li Y, 2021)

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

O termo foi introduzido pela primeira vez em 1957, por Conrad H. Waddington, com o intuito de explicar a correlação entre os genes e a expressão de proteínas. Seus estudos, que datam desde 1942, foram baseados na análise dos possíveis fenótipos apresentados pelas moscas *Drosophila*, nos quais a localização do gene *White*, na heterocromatina ou eurocromatina, orientava sua ativação ou silenciamento. (Peixoto P, et al, 2020) Waddington, então, definiu a epigenética como interações casuais entre os genes e seus produtos que trazem um determinado fenótipo ao ser. (Rivas MP, et al, 2019)

Adicionalmente aos estudos de Waddington, o entendimento da embriologia, em meados da década de 80, foi de grande importância na formação do conceito epigenético. Com o esclarecimento de como ocorria o processo de fecundação e a formação de um embrião, os estudiosos se empenharam em desvendar os mecanismos moleculares, bioquímicos e morfológicos que aconteciam no desenvolvimento embrionário. (Peixoto P, et al, 2020) Como consequência desses feitos, a epigenética, por muito tempo, foi amplamente associada aos eventos que conduziam à maturação de um organismo, a partir da fertilização do óvulo. (Ilango S, et al, 2020)

Em meados do século XX, o significativo avanço da ciência e de novas técnicas de análise resultou em grandes descobertas relativas à natureza do DNA, como a definição de sua forma em dupla hélice, seu empacotamento em estruturas mais robustas e a associação de proteínas, como as histonas, em sua constituição. (Peixoto P, et al, 2020) Essas descobertas, em conjunto com o advento do projeto genoma, proporcionaram o entendimento de que

REVISTA TÓPICOS

apenas algumas séries particulares de genes estão disponíveis para serem expressas, em local e tempo determinados. Ao mesmo tempo, demonstraram que a compreensão da sequência do DNA por si só era insuficiente para explicar as diferentes manifestações fenotípicas que ocorriam entre indivíduos, bem como a diversidade de características bioquímicas e morfológicas que compunham um único organismo, levando a considerações de que, apesar de o DNA ser essencialmente o mesmo em todas as células somáticas de um ser vivo, os padrões de expressão gênica variavam de forma significativa em diferentes tipos de células e, mais do que isso, esses padrões podiam ser herdados de forma clonal durante as divisões celulares. (Ilango S, et al, 2020) Propôs-se, então, que o mecanismo pelo qual o DNA é transcrito em proteínas não é mera e unicamente dependente da disposição das sequências gênicas em si, ele abrange um sistema de regulação sofisticado resultante de uma ação combinatória entre elementos genéticos, modulações químicas e fatores ambientais. (Rivas MP, et al. 2019 e Ilango S, et al, 2020)

Atualmente, a epigenética é definida como o estudo de alterações na função gênica, ou na estabilidade cromossômica, que não acarretam modificações na sequência do DNA, e que podem ser herdadas durante os ciclos celulares mitóticos e/ou meióticos. (Nebbioso A, et al, 2018)

Os mecanismos mais bem estudados, pelos quais a epigenética atua, envolvem a metilação do DNA, a modificação covalente de histonas e a atuação de RNAs não codificantes. (Nebbioso A, et al, 2018) Esses processos modulam a estruturação da cromatina e a maneira como as

REVISTA TÓPICOS

sequências gênicas são expostas durante as divisões celulares, bem como a forma de leitura dos genes, de acordo com a adição ou exclusão de marcadores bioquímicos, levando à composição de um padrão de transcrição e tradução do material genético para cada grupo de células no organismo. (Leite ML, Costa FF, 2017 e Rodrigues AHF, et al, 2019)

A regulação epigenética está intrinsecamente ligada aos processos de diferenciação e maturação celular, à dinâmica do envelhecimento, aos ciclos de proliferação e apoptose celular e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de diversas doenças humanas, incluindo o câncer, que recebe uma atenção particular no contexto da epigenética. ((Leite ML, Costa FF, 2017 e Rodrigues AHF, et al, 2019)

O câncer é uma neoplasia maligna que envolve múltiplos mecanismos de atuação e possui uma variedade de causas que dão início às disfunções celulares. É o resultado de mutações genéticas hereditárias ou aleatórias – a exemplo das deleções, duplicações e translocações – que podem desregular algumas classes gênicas, como os proto-oncogenes e os genes de reparo do DNA, e inativar genes de supressão tumoral. (Kontomanolis EN, et al, 2021) Atualmente, as causas do câncer vêm sendo associadas às modificações epigenômicas. Como descrito anteriormente, estas modificações, de natureza bioquímica, atuam nos genes e na estrutura da cromatina, modulando a transcrição e a tradução do material genético. Conjuntamente, esses fatores são capazes de induzir mudanças fisiológicas em uma célula que viabilizam a capacidade de se replicar de forma descontrolada, de acumular novas mutações, de se esquivar do sistema

REVISTA TÓPICOS

imunológico e de estabelecer novas formas de sinalização e comunicação, que dão origem ao processo neoplásico maligno. (Chen JF, Yan Q, 2021)

Um dos cânceres mais alarmantes para a saúde pública, atualmente, é o câncer de mama (CM). Globalmente, o CM é o segundo tipo de neoplasia maligna com maior incidência entre as mulheres, sendo responsável por 25% dos novos casos e 15% da mortalidade causada pela doença. (Houghton SC, Hankinson SE, 2021) No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estimou 66.280 novos casos para o ano de 2022, o que representa uma taxa de 43,74 casos por 100 mil mulheres. (INCA, 2021) O CM raramente acomete mulheres jovens, abaixo dos 40 anos, mas apresenta um aumento significativo da incidência entre os 50 e 70 anos de idade. Já nos homens, que também podem desenvolver esse tipo de câncer, a taxa de incidência representa 1% dentre todos os casos. (Houghton SC, Hankinson SE, 2021 e INCA, 2021)

O CM é uma neoplasia maligna que acomete, majoritariamente, as células epiteliais que revestem a camada interna dos ductos ou lóbulos mamários. Com menor frequência, podem se desenvolver em células de outros tecidos da mama, como o adiposo e o fibroso. (Houghton SC, Hankinson SE, 2021)

Os tumores originados na camada epitelial dos ductos ou lóbulos mamários, são denominados adenocarcinoma. Eles podem permanecer contidos em um único local (*in situ*), ou podem adquirir características invasivas. Os tumores invasivos ductais correspondem de 70% a 80% dos cânceres de mama, enquanto os lobulares correspondem de 5% a 15%. (Houghton SC, Hankinson SE, 2021)

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Durante a progressão do câncer, as células da mama perdem seu perfil epitelial dando lugar a fenótipos de células mesenquimais, que aumentam seu poder de migração, invasão e resistência às respostas imunológicas. (Fritz AJ, et al, 2019)

Os avançados estudos à cerca do CM concluíram que aproximadamente 30% dos casos da doença estão associados a alterações no epigenoma, e que essas alterações estão intimamente relacionadas a tumorigênese e ao processo metastático. Demonstrou-se, ademais, que as mudanças epigenéticas podem estar contidas nos carcinomas ductais in situ, no quais se encontram os estágios iniciais da progressão do câncer. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Além disso, o perfil de metilação do DNA, situados na região promotora dos genes, pode ser uma ferramenta clínica potencial para caracterizar o microambiente tumoral e as propriedades fisiológicas das células acometidas. Em alguns genes promotores, por exemplo, a hipermetilação pode condicionar um silenciamento da transcrição de genes de supressão tumoral, enquanto a hipometilação pode levar a ativação de oncogenes. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

O CM é uma neoplasia com amplo cenário de respostas clínicas, tanto a níveis terapêuticos como a níveis prognósticos, e possui um perfil molecular altamente heterogêneo. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Caracterizar essa heterogeneidade através dos aspectos epigenéticos pode contribuir de forma significativa e informativa nas decisões clínicas .

REVISTA TÓPICOS

(Silva GA, Castro et al, 2020)

Esses pontos realçam a importância de se estabelecer uma medicina personalizada e individualizada, baseada em traços genéticos individuais, biomarcadores específicos, ambiente e estilo de vida do paciente, otimizando, dessa forma, ações de prevenção, manejo e tratamento da doença. (Zhang S, et al, 2018)

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A epigenética e seus mecanismos de atuação

A epigenética é o conjunto de vias moleculares capazes de regular a atividade dos genes e moldar a estrutura da cromatina independentemente da alteração das sequências de nucleotídeos do DNA. (Li Y, 2021 e Rivas MP, et al, 2019)

Os mecanismos epigenéticos proporcionam uma variabilidade fenotípica que é estabelecida de acordo com marcas bioquímicas adicionadas ao DNA. Esses mecanismos geram uma identidade celular estável, que é mantida e transmitida através de sucessivas divisões mitóticas ou meióticas, constituindo padrões combinatórios que compõe o epigenoma de um indivíduo. (Rivas MP, et al, 2019)

Os processos epigenéticos mais bem reconhecidos abrangem a metilação das bases nitrogenadas do DNA, a metilação, acetilação, fosforilação, ubiquitilação e sumoilação de caudas N-terminais das proteínas histonas, e

REVISTA TÓPICOS

a interação de RNAs não codificantes com o material genético. (Rivas MP, et al, 2019 e Leite ML, Costa FF, 2017)

A adição covalente de um grupo metil (CH₃) a um nucleotídeo do DNA é o registro epigenético mais bem estudado até o momento. Essa agregação química ocorre, de forma mais frequente, nas bases citosinas que estão usualmente (mas não exclusivamente) adjacentes à um nucleotídeo de Guanina, formando uma estrutura de dinucleotídeos nomeada CpG, onde duas citosinas encontram-se localizadas diagonalmente uma à outra, uma em cada fita da molécula do DNA. (Fitz-James MH, Cavalli G, 2022) Essas estruturas podem ocorrer repetidamente no material genético, formando um complexo denominado Ilhas CpG, e podem apresentar-se em estados metilados ou não. (Rivas MP, et al, 2019 e Li S, Tollefsbol TO, 2021)

As Ilhas CpG estão aleatoriamente distribuídas no genoma, e são ricas em regiões promotoras de genes, frequentemente sobrepondo sítios de início de transcrição. A hipermetilação dessas regiões regulatórias, geralmente, está associada ao silenciamento transcricional do gene, ocorrendo o oposto no caso de hipometilação. Na carcinogênese, essas condições podem resultar no silenciamento de genes supressores de tumor e/ou ativação de oncogenes. (Li S, Tollefsbol TO, 2021) Porém, cada marca, isoladamente, não confere ao gene um estado fixo de transcrição (ativo ou inativo), elas precisam ser “lidas” e interpretadas por enzimas denominadas “readers”. (Rivas MP, et al, 2019)

Outra importante via epigenética está relacionada ao contexto da cromatina, no qual processos de expressão gênica requerem interação

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

dinâmica e coerente entre fatores de transcrição e acesso à maquinaria transcricional. (Fritz AJ, et al, 2019)

O nucleossomo é a unidade funcional da cromatina, constituído de um octâmero de 4 proteínas histonas sobre o qual o DNA se envolve, sendo elas H2A, H2B, H3 e H4. As histonas possuem “caudas” N-terminais que se estendem para fora da região central dos nucleossomos e são enriquecidas com uma variedade de modificações pós-traducionais (do inglês, PTMs-post-translational modifications). Essas modificações determinam o dobramento das histonas, e contribuem, portanto, para a conformação da cromatina, influenciando seus estados de afrouxamento ou compactação. O estabelecimento de uma conformação não convencional pode alterar o equilíbrio da expressão gênica, e ocasionar processos patogênicos, como aqueles observados na tumorigênese. (Zhao Z, Shilatifard A, 2019)

Os RNAs não codificantes (ncRNA), diferentemente do RNA mensageiro, representam um grupo de RNAs transcritos que não codificam nenhuma proteína. Apesar da aparente irrelevância nas funções biológicas, os ncRNAs têm sido considerados importantes reguladores epigenéticos, sendo classificados em três principais tipos: microRNAs (miRNA), small interfering RNA (siRNA) e long non coding RNA (lncRNA). (Li Y, 2021) Essas classes de RNAs têm sido associadas à regulação da expressão gênica através de combinações com diversas biomoléculas, como DNA, outros RNAs e proteínas. (Zhao Z, Shilatifard A, 2019)

Estudos sobre miRNAs têm demonstrado que essa estrutura contribuem com o comprometimento de linhagens celulares, indicando que mudanças

REVISTA TÓPICOS

na sua forma de operação poderiam levar à aquisição de características pluripotentes, em células que antes possuíam uma diferenciação estabelecida. (Zhao Z, Shilatifard A, 2019)

Já os lncRNAs estão associados aos mecanismos de looping do DNA, à formação do compartimento nuclear, ao processo de splicing do pré-RNA e à rede de comunicação de miRNA. Algumas hipóteses sugerem que esse subtipo de RNA interage diretamente com enzimas importantes nos processos epigenéticos, como as writers (responsáveis por inserir as modificações bioquímicas), readers (responsáveis pela leitura das marcas epigenéticas) e as erasers (responsáveis por eliminar as referidas marcas), levando à conclusão que os lncRNAs podem regular os domínios subnucleares e loci gênicos relacionados à maquinaria epigenética. (Hanly DJ, et al, 2018)

2.2 A Epigenética e o Câncer

O câncer representa um processo evolucionário que se inicia através do acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas induzidas pela idade, exposição a fatores mutagênicos e estímulos indutores de inflamação crônica. (Takeshima H, Ushijima T, 2019) Essas alterações possibilitam o surgimento de uma população celular maligna que evolui através de uma complexa interação com o microambiente em que se desenvolve, e apresenta notória heterogeneidade intratumoral, conforme submetida a sucessivas modificações genéticas e epigenéticas. (Nam AS, et al, 2021)

REVISTA TÓPICOS

Metilações aberrantes do DNA são continuamente apontadas em diversos tipos de cânceres. De forma ampla, observa-se a hipometilação global do genoma acompanhado pela hipermetilação regional de sítios promotores de transcrição, localizados nas ilhas CpG, que está frequentemente associada ao silenciamento de genes supressores de tumor. Exemplos dessa condição de hipermetilação com consequente inibição da transcrição, incluem genes como Glutathione S-transferase P1, em 90% dos casos de câncer de próstata, inibidor de Ciclina dependente de Kinase, em 20% dos carcinomas de pulmão e o gene BRCA1, em 12% dos carcinomas de mama e ovário. (Skvortsova K, et al, 2019)

A metilação do DNA é dependente da ação de enzimas metiltransferases (DNMTs) que se encontram disfuncionais nas neoplasias. Pelo fato de as ilhas CpG serem suscetíveis à ação dessas enzimas, o genoma global tende a sofrer uma maior hipometilação durante a tumorigênese, contribuindo para a instabilidade genômica. Essas circunstâncias aumentam casos de aneuploidia e favorecem o aumento da taxa de mutações nas células afetadas. A perda global da metilação também é acompanhada pela expressão aberrante de oncogenes, como MYC (família de proto-oncogenes), que resulta na desregulação das vias celulares e, concomitantemente, na alteração tridimensional da cromatina. (Skvortsova K, et al, 2019)

Recentes estudos apontam que uma reprogramação do metabolismo, comum nas células cancerosas, produz substratos e cofatores importantes para modificações pós-traducionais das histonas. Essas biomoléculas irão

REVISTA TÓPICOS

influenciar a estrutura das proteínas histonas favorecendo a transcrição de genes importantes, como aqueles associados à atividade redox, à produção de energia e ao escape da vigilância imunológica, levando às condições essenciais para a manutenção da célula e ambiente tumorais. (Sun L, et al, 2022)

As modificações pós-traducionais (PTMs) das histonas, e o papel das enzimas atuantes nesse contexto, contribuem para a compactação da cromatina, a dinâmica dos nucleossomos e, conseqüentemente, para a regulação transcricional dos genes, e podem ser implementadas em resposta a estímulos internos ou externos. As mudanças nos padrões das PTMs podem levar ao desequilíbrio na expressão gênica, acarretando perda ou ganho de funções, expressão exacerbada, supressão de promotores gênicos ou modificações de aminoácidos específicos das histonas, como a metilação dos resíduos N-terminais de lisina e arginina (principalmente encontrado nas histonas H3 e H4). (Zhao Z, Shilatifard A, 2019) As PTMs também possuem importante envolvimento nos eventos de mitose, meiose, resposta ao dano do DNA e vias de sinalização metabólica e de produção de energia. Esses mecanismos abrangem não só a metilação dos resíduos de aminoácidos das histonas, como a acetilação, sumoilação, ubiquitinação, glicosilação, carbonilação, entre outras adições bioquímicas já encontradas em alguns estudos. (Shanmugam MK, et al, 2018)

Recentes dados da literatura abordaram a importância dos RNAs não codificantes como relevantes condutores epigenéticos dos processos neoplásicos. Os mais bem estudados e relacionados ao câncer são os

REVISTA TÓPICOS

miRNAs, compostos de aproximadamente 22 nucleotídeos, e os lncRNAs, que podem exceder 200 nucleotídeos em comprimento. (Fridrichova I, Zmetakova I, 2019 e Yan H, Bu P, 2021)

Muitos miRNAs são altamente conservados em células de mamíferos e possuem a capacidade de regular processos biológicos chave, como a diferenciação e proliferação celular. Estão frequentemente localizados na região dos íntrons, podendo compartilhar regiões promotoras dos próprios genes ou apresentar promotores de forma independente, quando situados em regiões intergênicas. Alguns estudos demonstraram que os miRNAs podem ligar-se, por complementariedade, ao RNAm, ocasionando a degradação da referida molécula e inibindo o processo de tradução. (Fridrichova I, Zmetakova I, 2019)

Na tumorigênese, essas moléculas foram reportadas em duas categorias, sendo a primeira referente a miRNAs oncogênicos, geralmente expressos em níveis elevados, e a segunda, a miRNA supressores de tumor, frequentemente omissos ou com baixa expressão em células neoplásicas. (Fridrichova I, Zmetakova I, 2019) A exemplo disso, o miRNA-126 é conhecido por ser altamente presente nos cânceres de mama e colorretal, sendo vinculados à baixa expressão do gene p53. Outro importante exemplo é o MiRNA-105, que tem sido associado à modulação do microambiente tumoral; secretado pelas células neoplásicas, via exossoma, ele adentra as camadas do endotélio e suprime a expressão da proteína de junção celular, resultando no aumento da permeabilidade vascular e metástase. O miRNA-

REVISTA TÓPICOS

105, foi observado em células metastáticas de câncer de mama, com elevado nível de expressão. (Yan H, Bu P, 2021)

Os lncRNAs podem ser transcritos a partir de éxons, íntrons, regiões intergênicas ou regiões não tradutoras 5'/3'. Eles dobram-se em estruturas secundárias complexas, as quais facilitam sua interação com DNAs, RNAs e proteínas. Os lncRNAs podem ligar-se a miRNAs, impedindo, assim, a degradação do RNAm; podem modular fatores de transcrição, favorecendo a ativação de promotores; e podem servir como um pilar na comunicação proteína-proteína e suas referidas vias de sinalização, bem como na interação de proteínas envolvidas na cromatina. De forma semelhante aos miRNAs, os lncRNAs podem atuar como oncogenes ou supressores de tumor. (Yan H, Bu P, 2021)

2.3 A epigenética no desenvolvimento de neoplasias mamárias

O câncer de mama compreende uma doença com alta diversidade histológica e molecular, associado a um amplo espectro de resposta terapêutica e comportamento clínico. Sua caracterização é baseada no tamanho do tumor, na infiltração regional de linfonodos, na sua histologia e na avaliação imuno-histoquímica de receptor de estrógeno, progesterona e de fator de crescimento epidérmico humano 2. Esses elementos são essenciais para análise prognóstica e preditores terapêuticos na prática clínica. (de Almeida BP, et al 2019)

Os subtipos moleculares do CM podem ser classificados de acordo com a presença ou ausência de receptores hormonais (ER -estrógeno/PR-

REVISTA TÓPICOS

progesterona – HR+/HR-) e de receptores de fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2+/ HER2-). O subtipo Luminal A, com receptor hormonal positivo (HR+) e receptor de fator de crescimento negativo (HER2-), apresenta crescimento lento e menor agressividade, enquanto o subtipo Luminal B sendo receptor hormonal positivo (HR+) e receptor de fator de crescimento também positivo (HER2+), apresenta maior malignidade e potencial de expansão. Tumores triplo-negativos, ou do tipo basal (HR-/HER2-) constituem o tipo mais agressivo e de pior prognóstico. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Mecanismos envolvidos na aquisição da resistência hormonal no CM abrangem a amplificação de vias de sinalização de fatores de crescimento, expressões alteradas de coativadores e correpressores de receptores hormonais, splicing alternados para receptor de estrógeno e a desregulação de RNAs não codificantes. (Petri BJ, Klinge CM, 2020)

Alguns estudos relataram o papel de coativadores do receptor de estrógeno como importantes moduladores epigenéticos. Coativadores incluem famílias de genes, proteínas e enzimas que ativam o receptor de estrógeno, e ao se ligarem, agem como uma plataforma para o recrutamento de enzimas remodeladoras da cromatina, modificando o cenário epigenético e a transcrição gênica. (Garcia-Martinez L, et al, 2021)

Outras análises também apontaram para a aberrante sinalização do grupo de glicoproteínas WNT (responsáveis pela transdução de sinais). Essa via está envolvida na ativação da beta catenina, importante proteína de adesão célula-célula e célula-matrix extracelular, cuja função envolve

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

proliferação, crescimento, migração, diferenciação e morte celular. A metilação de genes antagonistas do WNT leva ao silenciamento desses genes e, conseqüentemente, à contínua sinalização da via WNT, induzindo proliferação e crescimento celular anormais. Interessante de notar que as vias de sinalização do WNT e do receptor de estrógeno possuem uma conexão espacial e, portanto, a ativação de um alimenta a estimulação do outro, promovendo crescimento e sobrevivência das células tumorais. (Garcia-Martinez L, et al, 2021)

Outra importante característica das neoplasias mamárias diz respeito ao aspecto de pluripotência que algumas subpopulações adquirem. Dotadas com maior capacidade de auto renovação e diferenciação em multilinhagens, possuem maior habilidade de metástase, de se tornarem resistentes à quimioterapia e de causar recidivas do tumor. Esse grupo de células são denominadas células-tronco cancerosas mamárias (do inglês, BCSC – Breast cancer stem cell), e se estabelecem através da metilação aberrante do DNA e do desempenho de miRNAs anormais, que ativam uma complexa cascata de sinalização, incitando mudanças celulares morfológicas e funcionais. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Uma via de sinalização relevante, denominada via HH (Hedgehog), foi relacionada a importantes alterações epigenéticas contribuintes para o estabelecimento de BCSC. A hipometilação do promotor gênico da via HH foi associada a um significativo aumento de sua ativação, promovendo o descontrole da divisão celular e potencial de auto renovação das células neoplásicas. Acredita-se que enzimas envolvidas na metilação do DNA

REVISTA TÓPICOS

reestabeçam a regulação, de forma antagônica, da sinalização HH, controlando a diferenciação das células tronco mamárias. (Garcia-Martinez L, et al, 2021)

No contexto da diferenciação celular, uma pesquisa realizada com o miRNA216a-5p (um membro da família dos miRNAs) revelou que, células cancerosas da mama, quando transfectadas com esse tipo de molécula, tinham seu crescimento notavelmente suprimido, indicando a importância dessa classe de miRNA no controle da proliferação celular. (Zhang Y, et al, 2019)

Outro relevante mecanismo epigenético para a tumorigênese mamária está associado às alterações químicas que ocorrem nas caudas N-terminais das proteínas histonas. A acetilação, por exemplo, conduz mudanças eletrostáticas que neutralizam a carga positiva das histonas e diminui as interações entre os resíduos de lisina e a carga negativa do DNA. Isso induz um estado mais afrouxado da cromatina, permitindo a ligação de fatores de transcrição. A P300, por exemplo, é uma enzima que catalisa a acetilação da lisina, altera a estrutura da cromatina e contribui para a transcrição de diversos genes, incluindo os oncogenes. A expressão intensificada de P300 tem sido observada em tumores iniciais do câncer de mama. (Guo P, et al, 2018)

Em um recente estudo, uma técnica inovadora denominada Imunoprecipitação de Cromatina seguida de Sequenciamento de DNA (CHIP-seq) foi utilizada em linhagens celulares do CM, para analisar oito conformações chaves das histonas, bem conhecidas por seu papel na

REVISTA TÓPICOS

ativação ou repressão de genes. Essas oito modificações envolviam 5 núcleos estruturais, de acordo com a metilação de suas caudas N-terminais, que estabeleciam o desenho da cromatina e, portanto, proporcionavam a interação dos fatores de transcrição. Esses núcleos foram classificados em H3K4me3, H3K4me1, H3K27me3, H3K9me3 e H3K36me3. Os resultados demonstraram que as mudanças conformacionais desses núcleos ocorriam em regiões genômicas diferentes e relevantes para a manutenção das células malignas (como regiões de promotores, acentuadores/enhancers, no corpo gênico e na heterocromatina). (Xi Y, et al, 2018)

3 METODOLOGIA

Esse trabalho foi baseado em uma revisão bibliográfica da literatura. Os artigos científicos foram pesquisados nas bases de dados Pubmed e Biblioteca Virtual em Saúde, através da busca dos descritores “Epigenômica”, “Epigenética”, “neoplasias mamárias” e “carcinoma mamário humano”, devidamente cadastrados no DeCs e com suas respectivas traduções no MeSH. Os critérios de inclusão para a busca foram artigos escritos em português ou inglês, com data de publicação entre 2018 e 2023 e que possuíam disponibilidade de leitura de forma completa e gratuita. A seleção dos artigos foi orientada pela relevância dos títulos e resumos que fossem coerentes com o tema abordado. Foram desconsiderados artigos publicados antes de 2018 e que necessitavam de pagamento para acesso.

4 DISCUSSÃO

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Nos eucariontes, o genoma é modulado por uma série de mecanismos epigenéticos que atua no estabelecimento de um perfil transcricional e, portanto, regula a expressão tecido- específica de genes, possuindo importante papel na diferenciação celular embrionária e na manutenção orgânica de um indivíduo. (Ilango S, et al, 2020)

A dinâmica dos mecanismos epigenéticos na carcinogênese tem sido demonstrada pela existência de disfunções no metabolismo, nas vias de transdução de sinais, no estabelecimento de populações pluripotentes e na remodelagem de um microambiente propício ao desenvolvimento tumoral. (Ilango S, et al, 2020)

Atualmente, modificações moleculares vêm ganhando cada vez mais destaque na classificação e caracterização do câncer de mama. (Silva GA, et al, 2020)

Com os recentes avanços tecnológicos, a determinação de um perfil de expressão gênica tem possibilitado uma melhor compreensão das características moleculares no CM e a definição de biomarcadores relevantes. (Zhang Y, et al, 2019) Assim como a metilação do DNA, fatores de remodelação da cromatina e a ação de enzimas modificadoras de histonas são, frequentemente, expressos de forma aberrante nas neoplasias, levando à alteração da identidade e comportamento celular. De forma complementar, RNAs não codificantes expressos de forma deletéria têm sido avaliados e identificados como biomarcadores em células e microambientes tumorais. (Yan H, Bu P, 2021)

REVISTA TÓPICOS

Segundo Chen, X. et al, a metilação do DNA no CM é largamente distribuída, contribuindo para sua característica e performance heterogênicas. Ainda segundo o autor, existem 2.690 sítos CpG metilados entre os tipos de CM Luminal e Triplo Negativo, sendo 183 deles hipermetilados e 130 hipometilados. Em seu estudo, detalhou-se 313 sítos CpG, correspondentes a 191 genes, cujo padrão de metilação influenciava no potencial de migração e proliferação celular. (Chen X, et al, 2019)

Almeida, B. et al, descreve em seu estudo a análise global da metilação do DNA no câncer de mama. De acordo com os autores, 368 sítos CpG estavam diferentemente metilados nas células neoplásicas mamárias, comparadas às células de tecido saudável. De 368 sítos identificados, 209 regiões correspondiam a genes expressos de maneira aberrante, sendo que 59% apresentavam-se hipermetiladas, enquanto 41% estavam hipometiladas. (de Almeida BP, et al, 2019)

Pesquisas ressaltam que, assim como a metilação do material genético, mecanismos de modificação das histonas, induzidos por diversos fatores como estrógeno, enzimas coativadoras de receptores de membrana, metabólitos e cofatores, são continuamente identificados como agentes epigenéticos que influenciam no desenvolvimento, sustentação e progressão do CM.

Martinez, L. et al descreve a correlação do receptor de estrógeno como estimulador para a remodelagem da cromatina. Segundo os autores, coativadores do receptor de estrógeno ligam-se à essa estrutura promovendo o recrutamento de enzimas e de complexos modificadores da

REVISTA TÓPICOS

cromatina que irão alterar o cenário epigenético, em especial nas regiões de promotores e acentuadores gênicos. (Garcia-Martinez L, et al, 2021)

De forma complementar, os fenótipos que proporcionam auto renovação e plasticidade às células malignas estão intrinsicamente relacionados à atuação epigenética, com padrões de metilação específicos no DNA, que se distinguem das células da mama saudáveis, e a síntese de miRNAs disfuncionais. De acordo com Wu, H. e Chu, P. a biogênese de miRNAs anormais induzem o estado de transição epitelial-mesenquimal dessas células, favorecendo a implantação de uma população não diferenciada. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Essas biomoléculas são, ainda, capazes de influenciar a conformação da cromatina e possibilitar a ligação de fatores de transcrição, levando à expressão de genes que contribuem para o desenvolvimento neoplásico. Em grande parte, os miRNAs podem ser classificados em ativadores ou supressores de tumor. (Wu H-J, Chu P-Y, 2021)

Um estudo orientado por Zhang, Y et al, relatou a importante atuação do miRNA-216a- 5p, demonstrando que esse tipo de miRNA pode atuar suprimindo a formação de clones celulares malignos quando introduzidos em cultura de células mamárias neoplásicas. (Zhang Y, et al, 2019)

Outra importante característica tumorigênica diz respeito ao potencial de invasão celular, que é um grande desafio no cenário terapêutico oncológico. Darwin, P. et al pesquisaram a expressão descontrolada da molécula PD-L1, associada à evasão imunológica, e notaram que a super expressão do gene

REVISTA TÓPICOS

associado a PD-L1, em células tronco mamárias cancerosas, apresentavam seus promotores hipometilados. Ademais, observaram que a modificação de histonas, nas regiões H3K9me3, H3K27me3 e H3K4me3 também induziam a ativação de PD- L1. (Darvin P, et al, 2019)

Adicionalmente, Li, W. et al avaliaram a expressão da molécula GD3s, também associada à migração e invasão teciduais, bem como à proliferação e formação de colônias celulares malignas. Em seus estudos, os autores encontraram uma elevada expressão de GD3s devido à hipometilação do gene ST8SIA1. Essa molécula é principalmente encontrada em cânceres ER+, ER- e triplo negativo. (Li W, et al, 2019)

O fato de marcas epigenéticas serem reversíveis compõe um grande valor terapêutico e diagnóstico na prática clínica oncológica, demonstrando a importância de se obter uma análise aprofundada e personalizada para cada tipo de câncer de mama.

5 CONCLUSÃO

A epigenética atua de forma bastante ampla e complexa, mas se sustenta como uma ferramenta essencialmente útil para determinar marcadores tumorais e compreender de que forma a presença ou ausência dessas marcas influenciam no desenvolvimento e tratamento da doença.

A compreensão desses mecanismos é de extrema importância no estudo das neoplasias mamárias, especialmente devido à sua potencial reversibilidade. Muitos mecanismos epigenéticos são reversíveis e têm sido considerados

REVISTA TÓPICOS

alvos importantes na manipulação e regulação dos processos neoplásicos mamários.

Em vista do exposto nesse artigo, com a contribuição de robustos estudos da literatura, é imprescindível o conhecimento a respeito das alterações epigenéticas na carcinogênese mamária, analisando de que forma esses mecanismos influenciam no comportamento da doença e como contribuem para a sua progressão. Investir na compreensão desses mecanismos significa uma oportunidade de elaborar soluções práticas em prol dos indivíduos afetados pela doença, oferecendo um diagnóstico e prognóstico seguro e confiável, e um tratamento personalizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

de Almeida BP, Apolónio JD, Binnie A, Castelo-Branco P. Roadmap of DNA methylation in breast cancer identifies novel prognostic biomarkers. BMC Cancer [Internet]. 2019;19(1):219. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1186/s12885-019-5403-0>

Carvalho TM, Brasil GO, Jucoski TS, Adamoski D, de Lima RS, Spautz CC, et al. MicroRNAs miR-142-5p, miR-150-5p, miR-320a-3p, and miR-4433b-5p in serum and tissue: Potential biomarkers in sporadic breast cancer. Front Genet [Internet]. 2022;13:865472. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2022.865472>

Chen JF, Yan Q. The roles of epigenetics in cancer progression and metastasis. Biochem J [Internet]. 2021;478(17):3373–93. Disponível em:

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

<http://dx.doi.org/10.1042/BCJ20210084>

Chen X, Zhang J, Dai X. DNA methylation profiles capturing breast cancer heterogeneity. BMC Genomics [Internet]. 2019;20(1):823. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-019-6142-y>.

Darvin P, Sasidharan Nair V, Elkord E. PD-L1 expression in human breast cancer stem cells is epigenetically regulated through posttranslational histone modifications. J Oncol [Internet]. 2019;2019:3958908. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/3958908>

Fridrichova I, Zmetakova I. MicroRNAs contribute to breast cancer invasiveness. Cells [internet] 2019;8(11):1361. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/cells8111361>

Fitz-James MH, Cavalli G. Molecular mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. Nat Rev Genet [internet] 2022;23(6):325–341. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41576-021-00438-5>

Fritz AJ, Gillis NE, Gerrard DL, Rodriguez PD, Hong D, Rose JT, et al. Higher order genomic organization and epigenetic control maintain cellular identity and prevent breast cancer. Genes Chromosomes Cancer [Internet]. 2019;58(7):484–99. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/gcc.22731>

Garcia-Martinez L, Zhang Y, Nakata Y, Chan HL, Morey L. Epigenetic mechanisms in breast cancer therapy and resistance. Nat Commun

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

[internet] 2021;12(1):1786. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-021-22024-3>

Guo P, Chen W, Li H, Li M, Li L. The histone acetylation modifications of breast cancer and their therapeutic implications. *Pathol Oncol Res*

[internet] 2018;24(4):807– 813. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1007/s12253-018-0433-5>

Hanly DJ, Esteller M, Berdasco M. Interplay between long non-coding RNAs and epigenetic machinery: emerging targets in cancer? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [internet] 2018;373(1748):20170074. Available from: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2017.0074>

Houghton SC, Hankinson SE. Cancer progress and priorities: Breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2021;30(5):822–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-20-1193>

Ilango S, Paital B, Jayachandran P, Padma PR, Nirmaladevi R. Epigenetic alterations in cancer. *Front Biosci (Landmark Ed)* [Internet]. 2020;25(6):1058–109. Available from: <http://dx.doi.org/10.2741/4847>

Incidência [Internet]. INCA - Instituto Nacional de Câncer. 2021 [cited 2022 Sep 14]. Available from: <http://www.inca.gov.br/controle-do-cancer-de-mama/dados-e-numeros/incidencia>

Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Kalagasidou S, Pagkalos A, et al. Basic principles of molecular biology of cancer cell-Molecular cancer indicators. *J BUON*. 2021;26(5):1723–34.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Leite ML, Costa FF. Epigenomics, epigenetics, and cancer. Rev Panamazonica Saude [Internet]. 2017;8(4):23–5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232017000400006>

Li S, Tollefsbol TO. DNA methylation methods: Global DNA methylation and methylomic analyses. Methods [internet] 2021;187:28–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.10.002>

Li W, Zheng X, Ren L, Fu W, Liu J, Xv J, et al. Epigenetic hypomethylation and upregulation of GD3s in triple negative breast cancer. Ann Transl Med [Internet]. 2019;7(23):723–723. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2019.12.23>

Li Y. Modern epigenetics methods in biological research. Methods [Internet]. 2021;187:104–13. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.022>

Mathew S, Merdad A, Al-Maghrabi J, Dallol A. Identification of frequent MTNR1B methylation in breast cancer following the application of high-throughput methylome analysis. BMC Genomics [Internet]. 2014;15(S2). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-15-s2-p44>

Nam AS, Chaligne R, Landau DA. Integrating genetic and non-genetic determinants of cancer evolution by single-cell multi-omics. Nat Rev Genet [internet] 2021;22(1):3–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41576-020-0265-5>

REVISTA TÓPICOS

Nebbio A, Tambaro FP, Dell’Aversana C, Altucci L. Cancer epigenetics: Moving forward. PLoS Genet [Internet]. 2018;14(6):e1007362. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1007362>

Peixoto P, Cartron P-F, Serandour AA, Hervouet E. From 1957 to nowadays: A brief history of epigenetics. Int J Mol Sci [Internet]. 2020;21(20):7571. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21207571>

Petri BJ, Klinge CM. Regulation of breast cancer metastasis signaling by miRNAs. Cancer Metastasis Rev [internet] 2020;39(3):837–886. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-020-09905-7>

Rivas MP, Teixeira ACB, Krepischi ACV. Epigenética: Conceito, mecanismos e impacto em doenças humanas. Genet Esc [Internet]. 2019;14(1):14–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2019.311>

Rodrigues AHF, Albuquerque CPC de, Cavalcante CD, Peixoto ADS. Mecanismos epigenéticos no câncer de mama: o papel dos biomarcadores e da medicina personalizada. Revista InterScientia [Internet]. 2019;7(2):174–86. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.26843/interscientia.v7i2.976>

Shanmugam MK, Arfuso F, Arumugam S, et al. Role of novel histone modifications in cancer. Oncotarget [internet] 2018;9(13):11414–11426. Available from: <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.23356>

Silva GA, Castro NS, Figueiredo RO. Mecanismos epigenéticos e a ação da expressão da proteína BRCA na carcinogênese mamária / Epigenetic

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Mechanism and the action of BRCA protein expression in mammary carcinogenesis. Braz J Dev [Internet]. 2020;6(10):82596–613. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n10-623>

Skvortsova K, Stirzaker C, Taberlay P. The DNA methylation landscape in cancer. Essays Biochem [internet] 2019;63(6):797–811. Available from: <http://dx.doi.org/10.1042/EBC20190037>

Sun L, Zhang H, Gao P. Metabolic reprogramming and epigenetic modifications on the path to cancer. Protein Cell [internet] 2022;13(12):877–919. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13238-021-00846-7>

Takeshima H, Ushijima T. Accumulation of genetic and epigenetic alterations in normal cells and cancer risk. NPJ Precis Oncol [internet] 2019;3(1):7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41698-019-0079-0>

Wang J, Lan X, Hsu P-Y, Hsu H-K, Huang K, Parvin J, et al. Genome-wide analysis uncovers high frequency, strong differential chromosomal interactions and their associated epigenetic patterns in E2-mediated gene regulation. BMC Genomics [Internet]. 2013;14:70. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-14-70>

Wu H-J, Chu P-Y. Epigenetic regulation of breast cancer stem cells contributing to carcinogenesis and therapeutic implications. Int J Mol Sci [Internet]. 2021;22(15):8113. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22158113>

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Xi Y, Shi J, Li W, Tanaka K, Allton KL, Richardson D, et al. Histone modification profiling in breast cancer cell lines highlights commonalities and differences among subtypes. BMC Genomics [Internet]. 2018;19(1). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-018-4533-0>

Yan H, Bu P. Non-coding RNA in cancer. Essays Biochem [internet] 2021;65(4):625–639. Available from: <http://dx.doi.org/10.1042/EBC20200032>

Zhang S, Wang Y, Gu Y, Zhu J, Ci C, Guo Z, et al. Specific breast cancer prognosis- subtype distinctions based on DNA methylation patterns. Mol Oncol [Internet]. 2018;12(7):1047–60. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/1878-0261.12309>

Zhang Y, Lin P, Zou J-Y, Zou G, Wang W-Z, Liu Y-L, et al. MiR-216a-5p act as a tumor suppressor, regulating the cell proliferation and metastasis by targeting PAK2 in breast cancer. Eur Rev Med Pharmacol Sci [Internet]. 2019;23(6):2469–75. Disponível em: http://dx.doi.org/10.26355/eurev_201903_17394

Zhao Z, Shilatifard A. Epigenetic modifications of histones in cancer. Genome Biol [internet] 2019;20(1):245. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-019-1870-5>

¹ Discente do Curso Superior de Biomedicina da Universidade Paulista
Campus Swift e-mail: thais.bertolino@yahoo.com

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

² Docente do Curso Superior de Biomedicina da Universidade Paulista
Campus Swift. Mestre em Ciências pelo Departamento de Clínica Médica
da Universidade Estadual de Campinas. e-mail:
larissa.rabi@docente.unip.br

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672