



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GUARANY MONT'ALVERNE DE ARRUDA

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM
CÂNCER DE MAMA NO INTERIOR DO CEARÁ**

SOBRAL

2023

GUARANY MONT'ALVERNE DE ARRUDA

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA
À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA
NO INTERIOR DO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará - Campus Sobral para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Doenças crônicas e câncer

Orientador: Prof. Dr. José Juvenal Linhares

SOBRAL

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D32 de Arruda, Guarany Mont'alverne.
ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A
RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM
CÂNCER DE MAMA / GuaranyMont'alverne de Arruda. – 2023.
70 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2023.
Orientação: Prof. Dr. José Juvenal Linhares.

1. Neoplasia. 2. Genotipagem. 3. Polimorfismo. 4. Neoadjuvância. I. Título.

CDD 610

GUARANY MONT'ALVERNE DE ARRUDA

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA
À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará - Campus Sobral para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Doenças crônicas e câncer

Orientador: Prof. Dr. José Juvenal Linhares

Aprovada em: 27/01/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Juvenal Linhares (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Em primazia, a **DEUS**, por ter me conduzido até aqui. Por ter colocado durante minha jornada de aprendizado pessoas de coração bom e honesto. Por guiar meus passos e iluminar meu caminho, fazendo assim acreditar que vale a pena se esforçar.

Aos meus pais, **José Gerardo de Arruda Coelho** e **Vitória Régia Montalverne de Arruda**, pelos ensinamentos e princípios durante a minha formação pessoal e acadêmica, e por me mostrarem que coragem e a determinação são grandes heranças, e com o tempo colheremos os frutos delas.

As minhas irmãs, **Joyce** e **Larissa**, pelas palavras de coragem e admiração, mesmo de longe me incentivando.

A minha amada esposa **Rochele Parente de Arruda**, pelo incentivo e apoio desde o princípio desse desafio. Obrigado pelo companheirismo e palavras de conforto diárias, que me faziam acreditar que tudo daria certo.

Aos queridos filhos **Felipe**, **Gustavo** e **Bernardo** que de forma indireta me incentivam a buscar sempre o melhor. Vocês são minha base!

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Juvenal Linhares**, que por anos me incentivou a iniciar o mestrado, pelos momentos de ensinamentos e conhecimentos compartilhados, pela amizade, compreensão, incentivo e paciência, acreditando assim, na minha capacidade para realização desse trabalho.

Aos Prof. Dr. **Anderson Weyne**, e **Jacson Costa** e **Carla Roberta** também pela confiança, pela paciência e por prontamente me ajudar sempre que os procurei para conversa.

Aos meus estudantes e colaboradores **Géfferson**, **Letícia**, **Rodrigo**, **Sarah**, **Roger**, **Ítalo** e **Ivo** que me ajudaram nas coletas de dados.

Aos colegas da turma do mestrado, pelas vitórias e ansiedades compartilhadas ao longo do percurso.

A **UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**, pela oportunidade de formação humana e profissional concedida.

RESUMO

O câncer de mama (CM) foi reconhecido como o tipo de câncer mais comum em mulheres. A incidência e a mortalidade por câncer vêm aumentando no mundo, em parte pelo envelhecimento, pelo crescimento populacional, como também pela mudança na distribuição e na prevalência dos fatores de risco de câncer, especialmente aos associados com fatores genéticos. O fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) desempenha um papel crucial na biologia do câncer humano, estando associado à formação de tumores de mama e resistência à terapia, tornando-se um alvo para os agentes antitumorais. A ausência ou a diminuição de expressão de receptor de IGF-1 (IGF-1R) após o tratamento quimioterápico foram associadas a uma melhor resposta terapêutica. Além disso, membros de codificação de genes da via IGF-1 são conhecidos por abrigar vários polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), que é entendido como uma alteração no gene, representados por mudança de um único par de bases nitrogenadas. Buscou-se então identificar variantes genéticas que influenciassem na expressão de IGF-1 em pacientes com CM. O objetivo do estudo foi avaliar a associação entre o polimorfismo (rs2016347) do receptor 1 do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1R) com a resposta à quimioterapia neoadjuvante (QTNA), verificar a sua distribuição genotípica e avaliar a correlação desse polimorfismo com os achados patológicos e imunohistoquímicos em mulheres com CM acompanhadas no serviço de mastologia da Santa Casa de Sobral – Ceará. Foi realizado estudo observacional e prospectivo com 40 pacientes do sexo feminino, que usaram os quimioterápicos de forma neoadjuvante. A genotipagem dos polimorfismos foi feita por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real alelo específica. A análise estatística foi realizada por meio do teste exato de Fisher, adotando uma confiança de 95%. A significância estatística foi estabelecida em $P < 0,05$. Os genótipos encontrados e suas distribuições foram respectivamente GG= 11 (27,5%), GT= 20 (50%), TT= 9 (22,5%). A presença do alelo T esteve associado significativamente com a resposta a QTNA, como a redução do tamanho do tumor ($p < 0,023$), a um melhor status linfonodal axilar ($p < 0,05$), sem apresentar associação com os marcadores imunohistoquímicos avaliados como, receptores hormonais ($p > 0,23$), HER2 ($p = 0,395$) e KI67 ($p > 0,43$).

Palavras chaves: Neoplasia; Genotipagem; Polimorfismo; Neoadjuvância; Genética Médica; IGF-1

ABSTRACT

Breast cancer (BC) has been recognized as the most common type of cancer in women. Cancer incidence and mortality are increasing worldwide, partly due to aging, population growth, as well as changes in the distribution and prevalence of cancer risk factors, especially those associated with genetic factors. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) plays a crucial role in human cancer biology, being associated with breast tumor formation and resistance to therapy, making it a target for antitumor agents. The absence or decrease of IGF-1 receptor (IGF-1R) expression after chemotherapy treatment were associated with a better therapeutic response. In addition, IGF-1 gene coding members are known to harbor several unique nucleotide polymorphisms (SNPs), which is understood to be a gene change, represented by changing a single pair of nitrogen bases. We then sought to identify genetic variants that influenced the expression of IGF-1 in patients with (CM). The aim of this study was to evaluate the association between the polymorphism (rs2016347) of insulin-like growth factor 1 (IGF-1R) with the response to neoadjuvant chemotherapy (QTNA), verify its genotypic distribution and evaluate the correlation of this polymorphism with pathological and immunohistochemical findings in women with CM followed in the mastology service of Santa Casa de Sobral – Ceará. An observational and prospective study was carried out with 40 female patients, who used chemotherapy in a neoadjuvant form. The genotyping of polymorphisms was performed by polymerase chain reaction (PCR) in real-time specific allele. Statistical analysis was performed using Fisher's exact test, adopting a 95% confidence interval. Statistical significance was set at $P < 0.05$. The genotypes found and their distributions were respectively GG= 11 (27.5%), GT= 20 (50%), TT= 9 (22.5%). The presence of the T allele was significantly associated with response to neoadjuvant chemotherapy, such as tumor size reduction ($p < 0.023$), better axillary lymph node status ($p < 0.05$), with no association with the markers immunohistochemicals evaluated such as hormone receptors ($p > 0.23$), HER2 ($p = 0.395$) and KI67 ($p > 0.43$).

Keywords: Chemotherapy; Gene expression; Neoadjuvancy; Polymorphisms; medical genetics; IGF-1

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação das particularidades adquiridas da célula tumoral.....	19
Figura 2 – Taxas de mortalidade por câncer de mama feminino, específicas por faixas etárias, por 100.000 mulheres. Brasil, 1979 a 2019.....	22
Figura 3 – Modelo esquemático de metástase de câncer de mama.....	23
Figura 4 – Reprodução animada dos processos de metastatização dos tumores.....	27
Figura 5 – Representação simplificada dos componentes intracelulares do sistema IGF e suas ações.....	31
Figura 6 – Novo estadiamento do câncer de mama TNM 8ª Edição.....	39
Figura 7 - Representação do Padrão heterozigoto (GT).....	40
Figura 8 - Representação do Padrão homozigoto (GG).....	40
Figura 9 - Representação do Padrão homozigoto (TT).....	43
Figura 10 - Gráfico de discriminação alélica.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Representação das mutações de alta, média e baixa penetrância associadas ao Câncer mama.....	24
Tabela 2 - Categoria das características clínico-epidemiológicas gerais.....	46
Tabela 3 - Análise de associação de características clínico-epidemiológico com alelo G.....	48
Tabela 4 - Análise de associação de características clínico-epidemiológico com o alelo T...	49
Tabela 5 - Análise de associação de características clínico-epidemiológico com os genótipos homozigoto TT/GG.....	49

LISTAS DE QUADROS

Quadro 1 - Representação de indicações de quimioterapia neoadjuvante no câncer de mama operável.....	29
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Proteína quinase B
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CM	Câncer de mama
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EGF	Fator de Crescimento Epidermal
ER	Receptor de Estrógeno
EMT	Do inglês, Epithelial-Mesenchymal Transition
FDA	Do inglês, Food and Drug Administration
HDP	Distúrbios Hipertensivos da gravidez
HER2	Receptor 2 do Fator de Crescimento Epidermal Humano
HIF	Fator Induzível por Hipóxia
IGF	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IRS	Substrato do receptor de insulina
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MP	Método de Miller e Payne
MET	Do inglês, Mesenchymal- Epithelial Transition
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
QT	Quimioterapia
QTNA	Quimioterapia neoadjuvante
RT – qPCR	PCR Quantitativa em Tempo Real

S6K Proteína S6 Quinase

SNP Polimorfismo de Nucleotídeo Único

TGF- α Fator de Crescimento Transformador Alfa

TNM Tumor, Linfonodo e Metástase

TOR Alvo da Rapamicina

VEGF Fator de Crescimento Endotelial Vascular

LISTA DE SÍMBOLOS

>	Maior que
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
™	Marca Comercial
ng	Nanograma
μL	Microlitro
mL	Mililitro
°C	Grau Celsius
α	Alfa
H ₂ O	Água

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 O Câncer.....	18
2.2 Biologia molecular do câncer.....	18
2.2.1 Protooncogenes e oncogenes.....	20
2.3 Câncer de mama.....	21
2.3.1 Patogênese do câncer de mama.....	22
2.3.2 Fatores hereditários.....	23
2.3.3 Fatores hormonais.....	24
2.3.4 Fatores de transcrição.....	25
2.4 Tratamento do câncer de mama.....	27
2.4.1 Cirurgia.....	27
2.4.2 Radioterapia.....	28
2.4.3 Quimioterapia.....	28
2.5 Quimioterapia neoadjuvante para o câncer de mama.....	31
2.6 Fator de crescimento semelhante a insulina-1 e sua relação com o desenvolvimento e Metástase do câncer.....	32
2.7 Polimorfismo de nucleotídeo único (SINGLE-NUCLEOTIDE).....	32
2.7.1 Polimorfismos genéticos na patogênese do câncer.....	33
2.7.2 Expressão do plimorfismo do gene IGF1R(rs20116347) e sua relação com o câncer de mama.....	34
3 JUSTIFICATIVA	35
4 HIPÓTESES	36
5 OBJETIVOS	37
5.1 Objetivo geral.....	37
5.2 Objetivos específicos.....	37
6 MATERIAL E MÉTODOS	38
6.1 Desenho do estudo.....	38
6.2 Local de estudo.....	38
6.3 População e amostra.....	38
6.4 Critérios de inclusão e exclusão.....	39
6.4.1 Critério de inclusão.....	39
6.4.2 Critérios de exclusão.....	39

6.5 Coleta de dados.....	40
6.6 Ensaio laboratorial.....	40
6.6.1 Extração de DNA.....	40
6.6.2 PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR)	41
6.7 Análise estatística.....	43
6.8 Aspectos éticos.....	43
6.9 Riscos e benefícios do estudo.....	44
7 RESULTADOS.....	46
7.1 Características Gerais do estudo.....	46
7.5 Relação dos genótipos do polimorfismo.....	47
8 DISCUSSÃO.....	51
8.1 Características epidemiológicas.....	51
8.2 Polimorfismo rs2016347 e quimioterapia neoadjuvante.....	53
9 CONCLUSÃO.....	55
10 REFERÊNCIAS.....	56
11 ANEXO A – FICHA DA COLETA DE DADOS DAS MULHERES DO ESTUDO: QUESTIONÁRIO APLICADO ÀS PACIENTES.....	64
ANEXO B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	66
ANEXO C: TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO.....	69
ANEXO D- TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS.....	70

1 INTRODUÇÃO

O câncer pode ser classificado como uma doença causada por uma desordem genética em células normais do organismo, por meio de alterações cumulativas no material genético, causando um desequilíbrio entre as taxas de crescimento e morte celular (BARZAMAN *et al.*, 2020). Em mulheres, o câncer de mama (CM) foi reconhecido como o mais comum e a principal doença relacionada a malignidade em todo o mundo (WILCOCK; WEBSTER, 2021).

Sobretudo, o CM, é um problema de saúde pública mundial, sua incidência mundial é de aproximadamente 2,3 milhões de novos casos estimados em 2020. É a causa mais frequente de morte pela doença nessa população, com 684.996 óbitos, estimados para o ano de 2021 (15,5% dos óbitos por câncer em mulheres) (SUNG *et al.*, 2021). No Brasil, para o ano de 2023, foram estimados 73610 casos novos, o que representa uma taxa ajustada de incidência de 41,89 casos por 100.000 (INCA, 2022). A taxa de mortalidade por CM no Brasil é cerca de 14,23 óbitos/100.000. Assim, o CM é a primeira causa de morte por câncer na população feminina em todas as regiões do Brasil (16,1% do total de óbitos) (INCA, 2021). A região do Nordeste ocupa o terceiro maior percentual na mortalidade por CM com 15,6% (INCA, 2020).

O tratamento atual do CM pode ser local por cirurgia e radioterapia, ou tratamento sistêmico, pela quimioterapia (QT) citotóxica, terapia hormonal e terapia biológica (ROSSI; MAZZARA; PAGANI, 2019). A QT pode ser efetuada com a administração de um ou mais agentes quimioterápicos. Levando em conta a sua finalidade, ela pode ser classificada em: (A) Curativa, (B) Adjuvante, (C) Neoadjuvante, e (D) Paliativa (ROSSI; MAZZARA; PAGANI, 2019).

O principal objetivo QTNA é tentar ser efetiva na diminuição/redução do volume tumoral antes da cirurgia, para que possa possibilitar a retirada do tumor em um procedimento menos extenso (DA COSTA; CHAGAS, 2013). Este tratamento tem a vantagem de conservação mamária mais frequente (SHIEN; IWATA, 2020) e oferece a oportunidade de pesquisa translacional de preditores moleculares de resposta tumoral

Concomitantemente, para o tratamento bem-sucedido do CM, torna-se fundamental o conhecimento das opções terapêuticas. Um progresso substancial tem sido realizado na compreensão dos mecanismos da doença, mas muitas perguntas ainda não foram esclarecidas. A ascensão do conhecimento do genoma, expressão gênica bem como dos polimorfismos tem permitido a identificação de biomarcadores que ajudam a categorizar os tipos de CM. Nas últimas duas décadas, a pesquisa segue uma abordagem integrativa utilizando redes de interação

gene/proteína, refletindo que fatores biológicos devem interagir influenciando o comportamento da doença e a resposta terapêutica (WARSON *et al.*, 2013).

O Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 (IGF-1) desempenha um papel crucial na biologia do câncer humano, estando associado à formação de tumores de mama e resistência à terapia, tornando-se um alvo atraente para os agentes antineoplásicos (KURODA *et al.*, 2015; SARKISSYAN *et al.*, 2014). Além disso, estudos epidemiológicos têm mostrado uma relação entre altos níveis de IGF-1 circulantes, densidade mamária, e risco de desenvolvimento da doença (DIORIO *et al.*, 2005). Níveis de IGF-1 aumentados estão associados a uma mortalidade elevada do CM e com resistência inerente aos tratamentos antitumorais em modelos pré-clínicos (DUGGAN *et al.*, 2013).

Além disso, membros de codificação de genes da via IGF-1 são conhecidos por abrigar vários polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) que influenciam a atividade da via. (Groot *et al.* 2016)

Desse modo, surgem diversas análises que podem ser feitas sobre o IGF-1R, para elucidar melhor sua participação direta/indireta no tratamento e torná-la mais eficaz. Assim podemos indagar se a maior ou menor expressão de IGF-1R é capaz de melhorar a terapia e fazer com que seja mais eficiente. Ou até mesmo se, o aumento de IGF-1R está relacionado com a progressão da doença com maior risco de metástase, ou ainda, se SNPs influenciam de forma negativa ou positiva na via do IGF-1R.

Somando a isso, os objetivos do presente estudo são: Verificar a distribuição genotípica desse polimorfismo genético (IGF1R - rs2016347) em mulheres brasileiras com CM; Avaliar a correlação desse polimorfismo genético com os achados patológicos e imunohistoquímicos nas pacientes com CM e correlacionar o perfil epidemiológico aos genótipos do SNP rs2016347 na quimioterapia neoadjuvante.

Com isso, espera-se ao final da pesquisa, avaliar a associação entre o polimorfismo (rs2016347) do receptor 1 do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1R) com a resposta à quimioterapia neoadjuvante em mulheres com câncer de mama (CM), para que se possa tornar uma estratégia importante e que possamos compreender melhor o comportamento da doença e sua resposta terapêutica.

Para melhor compreensão dos aspectos relacionados a este estudo, segue uma breve revisão de literatura que abordará os seguintes tópicos: biologia molecular do câncer, protooncogenes e oncogenes, patogênese e tratamento do CM, polimorfismos de nucleotídeo único envolvidos na patogênese do câncer, entre outros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Câncer

O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese ou oncogênese e, em geral, acontece lentamente, podendo levar vários anos para que um tumor visível seja originado a partir de uma célula cancerosa. Os efeitos cumulativos de diferentes agentes cancerígenos ou carcinógenos são os responsáveis pelo início, promoção, progressão e inibição do tumor. Além disso, a carcinogênese é determinada pela exposição a esses agentes, em uma dada frequência e em dado período, e pela interação entre eles, sendo um processo longo, unidirecional e sequencial (PATTERSON *et al.*, 2018). Ou seja, é um jogo de forças entre genes e proteínas com ação supressora versus outros genes e proteínas de atuação contrária.

Desse modo, os três estágios do processo da carcinogênese, que facilitam ou dificultam a instalação do dano celular, são eles: (1) Estágio de iniciação: os genes sofrem ação dos agentes cancerígenos, que provocam modificações. (2) Estágio de promoção: nessa fase, ocorre a expansão de clones mutantes compostas de células fenotipicamente alteradas por estímulos à proliferação celular de fatores de crescimento autócrinos, onde a célula em transformação secreta seus próprios fatores de crescimento (EGF, IGF, VEGF, PDGF, TGF- α , HIF, entre outros) ou recruta células inflamatórias e estromais para produzirem esses fatores. (3) Estágio de progressão: o processo de transformação atinge seu climax, com células mutantes imortais, capazes de proliferar indefinidamente, destruir a lâmina própria e invadir tecidos e ganhar a corrente sanguínea (DE ALMEIDA *et al.*, 2018).

Assim, as modificações da epigenética que ocorrem nessas fases são acumuladas e herdadas durante a próxima divisão celular e gera uma alteração do fenótipo, no entanto, não ocorrem mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA (SUN; ZHANG; GAO, 2021; PATTERSON *et al.*, 2018).

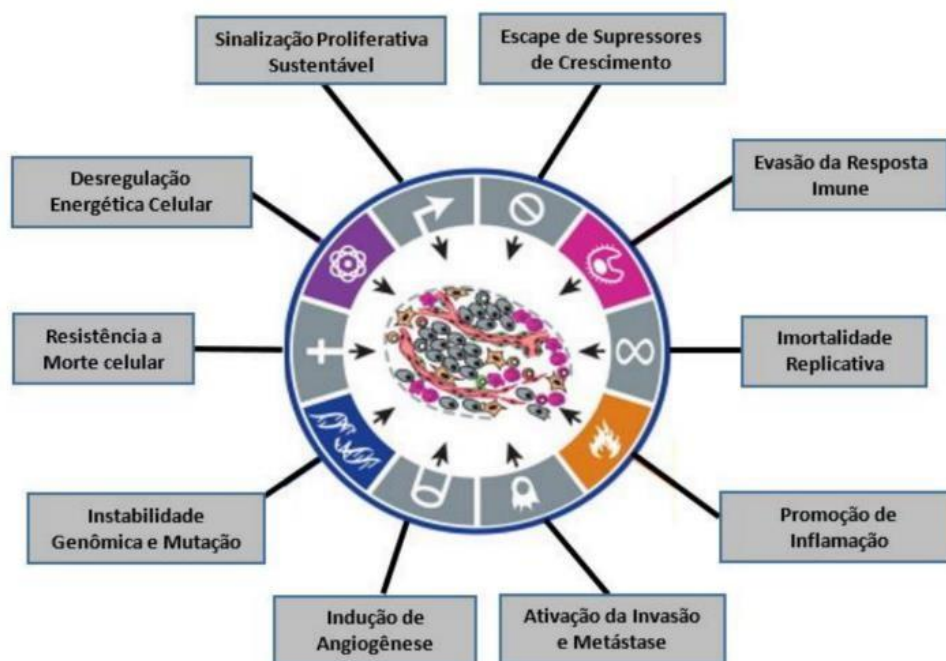
2.2 Biologia Molecular do Câncer

Algumas características cercam o a célula cancerígena e podem ser usadas para determinar o estágio do câncer. Concomitantemente, o câncer pode ser caracterizado devido a perda do controle da proliferação celular, aquisição de características associadas com a progressão tumoral (desdiferenciação, resistência à apoptose, capacidade de indução da angiogênese e transição epitélio-mesênquima) (figura 1) resultado do dano físico, químico ou

biológico no material genético (WHITE; MEHNERT; CHAN, 2015).

As modificações genéticas que levam ao câncer, podem ser devido à amplificação gênica, deleções, mutações pontuais, perda de heterozigose e rearranjos cromossômicos. (ALONSO; DOW, 2021). Existe, portanto, uma diferença entre as modificações genéticas, pois são irreversíveis, e epigenéticas, que são reversíveis. Sendo as principais características das alterações epigenéticas: hipermetilação, hipometilação, modificações pós-traducionais de histonas, e expressão de microRNA modificada (CARDOSO; UDOH; STATES, 2020; PATTERSON *et al.*, 2018).

Figura 1 - Características do câncer adquiridas durante o desenvolvimento tumoral.



Fonte: (Adaptado) Hanahan e Weinberg, 2011.

Logo, a progressão tumoral é um evento marcado entre a quebra da integridade genômica e mutações, que vão favorecer os tumores no corpo humano, que pode resultar ainda na ativação de oncogenes ou a inativação de supressores tumorais (BAYLIN; JONES, 2016).

Somando a isso, fatores externos e internos, podem influenciar tanto no estímulo ou na inibição de mecanismos de sinalização celular, fazendo com que a célula cancerígena desenvolva seus próprios mecanismos autônomos de sinalização celular (PARK; PYUN; PARK, 2020). São fatores externos: o tabaco, produtos químicos, radiação e organismos infecciosos, por exemplo HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), e internos: mutações

herdadas, condições imunes, hormônios, entre outros (BAYLIN; JONES, 2016; PATTERSON *et al.*, 2018).

De forma genética, classifica-se o padrão de apresentação dos casos de câncer em três grupos: (1) Câncer esporádico: corresponde a 70% dos casos de cânceres e apresenta-se como casos isolados em uma família, geralmente ocorrendo em idade mais avançada. A principal causa são fatores ambientais e endógenos (ALONSO; DOW, 2021). (2) Câncer familiar (ou agregação familiar de câncer): corresponde a 20% dos casos de cânceres, apresentando maior frequência de casos numa mesma família, porém sem padrão de herança mendeliano. (3) Câncer hereditário: responde por cerca de 5% a 10% dos casos de câncer cuja causa principal é a mutação germinativa (presente em todas as células do corpo) em um gene de alta penetrância (PATTERSON *et al.*, 2018).

2.2.1 Protooncogenes e oncogenes

O genoma humano carrega mais de 22.000 genes, segundo o resultado do projeto genoma humano (2002), e vários outros genes são identificados pelo desenvolvimento tecnológico devido aos grandes estudos em torno o mundo. Assim, cada gene leva uma informação e pode dar início a uma determinada função (ROBERTS 2001).

Os genes em sua maioria diferem entre as funções, modo de expressão, sequenciamento genético, entre outros (COSTA SOUZA; RIBEIRO, 2015). Com isso, um gene que inicia um processo de multiplicação celular, não tem a capacidade de interrompê-lo (WHITE; MEHNERT; CHAN, 2015). Então deve existir, no indivíduo sem uma célula cancerígena, uma determinada harmonia, para que haja um equilíbrio entre esses genes (ROBERTS 2001; PATTERSON *et al.*, 2018).

Os protooncogenes são genes responsáveis pelo aumento da proliferação celular, mas quando sofrem uma determinada mutação (dominante) ou translocações codificam proteínas superexpressados, que são chamados de oncogenes, que pode, em muitos cenários, acelerar ainda mais o processo de multiplicação celular, por meio de uma produção anormal ou excesso de um fator de crescimento celular desordenado (BROWN, 2021).

Logo, o controle do ciclo celular, pode ser direcionado por alguns fatores de transcrição, em especial os que são codificados por oncogenes ou por genes supressores de tumor (ARTEAGA, 2013). Os oncogenes MYC, MYB, FOS e JUN, são genes que desempenham um papel de suma importância no crescimento celular (HARTL; BISTER, 2021; FRY; INOUE, 2019; JIANG *et al.*, 2020).

A ativação inadequada do gene MYC, que contribui para o desenvolvimento das neoplasias humanas, pode ocorrer por diferentes mecanismos, dentre eles, as translocações cromossômicas, amplificação gênica e os estímulos da transcrição gênica (HARTL; BISTER, 2021).

2.3 Câncer de mama

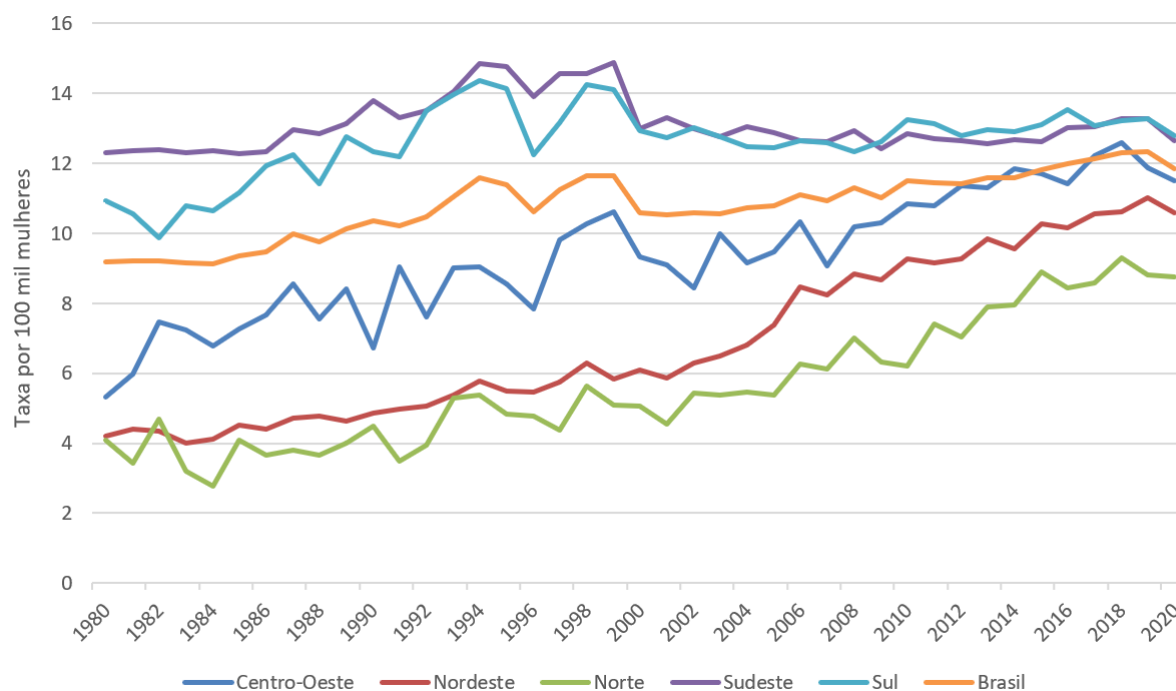
O Câncer de Mama (CM) é considerado uma doença heterogênea com relação à clínica e à morfologia. É um tipo de câncer considerado multifatorial, envolvendo fatores biológico, endócrinos, vida reprodutiva, comportamento e estilo de vida (AKA *et al.*, 2021). Além disso, envolve o envelhecimento, fatores relacionados à vida reprodutiva da mulher, história familiar, alta densidade do tecido mamário (razão entre o tecido glandular e o tecido adiposo da mama), sendo esses conhecidos fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama (BOŠKAILO *et al.*, 2021).

No mais, consumo de álcool, excesso de peso, sedentarismo e exposição à radiação ionizante também são considerados agentes potenciais para o desenvolvimento desse câncer. A idade continua sendo um dos mais importantes fatores de risco, visto que as taxas de incidência aumentam rapidamente até os 50 anos (KLECKNER *et al.*, 2021; FREUDENHEIM, 2020).

Após essa idade, o aumento ocorre de forma mais lenta, o que reforça a participação dos hormônios femininos na etiologia da doença (SUBRAMANI *et al.*, 2017). Entretanto, o CM observado em mulheres jovens apresenta características clínicas e epidemiológicas bem diferentes das observadas em mulheres mais velhas (ROSSI; MAZZARA; PAGANI, 2019). Geralmente são mais agressivos, apresentam uma alta taxa de presença da mutação dos genes BRCA1 e BRCA2, além de super expressarem o gene do fator de crescimento epidérmico humano receptor 2 (HER2) (YADAV *et al.*, 2021).

No que se refere à idade das pacientes, a incidência dessa doença tende a crescer progressivamente a partir dos 40 anos, assim como a mortalidade (INCA, 2019) (Figura 2).

Figura 2 - Taxas de mortalidade por câncer de mama feminino, específico por faixas etárias, por 100.000 mulheres. Brasil, 1980 a 2020.



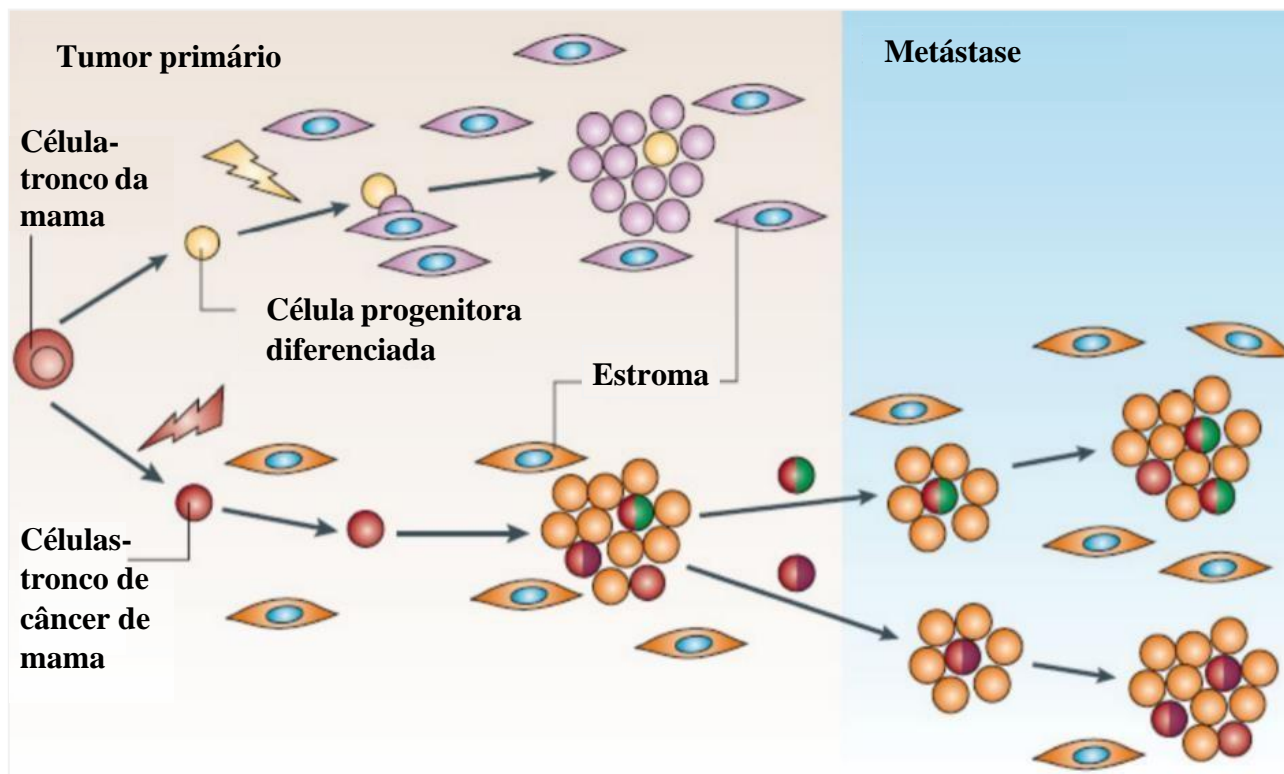
Fonte: Atlas de mortalidade por Câncer de Mama (2022).

2.3.1 Patogênese do Câncer de mama

Segundo SUN *et al.* (2017), mutações e oncogêneses em células mamárias podem se transformar em células de CM, gerando um tumor de pobre prognóstico (Figura 3). Mutações que ocorrem em células progenitoras diferenciadas podem formar um CM de bom prognóstico e não metastático (BUTTI *et al.*, 2019)

No entanto, nos tumores de pobre prognóstico e metastáticos, sob a influência de células estromais, a população de células cancerígenas possuem a habilidade de metastatizar (MALLER *et al.*, 2021). Parece que as células de câncer diferem entre si de acordo com o tecido para o qual, seletivamente, darão origem a uma metástase (SUN *et al.*, 2017; MALLER *et al.*, 2021). No local da metástase, as células de câncer podem induzir uma resposta estromal similar àquela do sítio primário do tumor mamário (LI *et al.*, 2021).

Figura 3 – Modelo esquemático de metástase de câncer de mama



Fonte: Weigelt; Petersen; van't Veer (2005)

2.3.2 Fatores Hereditários

Assim como qualquer outro tumor maligno, o CM, não tem uma causa única, mas podem estar relacionados à fatores genéticos, essas alterações ocorrem a partir de modificações nos genes, que irão atuar na proliferação celular, provocadas em circunstâncias e exposição de fatores biológicos, químicos e físicos (GARCIA- MARTINEZ *et al.*, 2021; AKA *et al.*, 2021; PATTERSON *et al.*, 2018). No entanto, algumas dessas modificações nos genes, podem estar relacionadas a fatores hereditários de predisposição (Figura 4).

Desse modo, os fatores genéticos/hereditários estão relacionados em determinados genes (WANG *et al.*, 2018). Dentre as mutações principais associadas ao CM destacam-se os genes BRCA1 e BRCA2, que apresentam um risco de alta penetrância na população (YADAV *et al.*, 2021).

Tabela 1: Mutações de alta, média e baixa penetrância associadas ao câncer de mama.

Penetrância	Genes
Alta	BRCA1, BRCA2, TP53, STK11, PTEN, CDH1
Moderada	ATM, CHEK2, BRIP1, PALB2, FGFR2, MAP3K1, LSP1, COX11
Baixa	TNP1/IGFBP5/IGFBP2, TOX3, FAM84B/c-MYC, NEK10/SLC4A7, RAD51L1, NS1, CASP8 (D302H), NOTCH2/FCGR1B, MRPS30/FGFR10, ESR1

Fonte: Modificado de MAVADDAT *et al.*, 2010; BREAST CANCER ASSOCIATION CONSORTIUM, 2021.

Como citado anteriormente, as células sofrem uma mutação, e replicam essa mutação, que pode ser tanto genética como associada as alterações epigenéticas, tornando uma célula normal com um potencial maligno alto (metastáticas), alterando o ciclo e parada celular, reparo, e proliferação celular desordenada (SUN *et al.*, 2017; MALLER *et al.*, 2021).

A metilação de ilhas CqG que se encontra nas regiões promotoras de genes supressores de tumor, pode sofrer determinadas alterações, que alteram a expressão de genes associados ao processo de carcinogênese, fazendo com que haja um silenciamento transcricional e a progressão do câncer (POULIOT *et al.*, 2015).

2.3.3 Fatores Hormonais

Alguns fatores endócrinos/história reprodutiva estão associados na maioria dos casos de CM ao estímulo do estrogênico, seja endógeno ou exógeno, com aumento do risco quanto maior for a exposição (TRABERT *et al.*, 2020; GARCIA-MARTINEZ *et al.*, 2021). Os fatores endócrinos incluem: história de menarca precoce (idade da primeira menstruação menor que 12 anos), menopausa tardia (após os 55 anos), primeira gravidez após os 30 anos, nuliparidade, uso de contraceptivos orais (estrogênio- progesterona) e terapia de reposição hormonal pós-menopausa (estrogênio-progesterona) (IARC, 2021).

Os hormônios esteroides sexuais ovarianos (estrógeno e progesterona) possuem

uma relação direta no aumento de risco para o surgimento de CM, por serem hormônios que estão envolvidos no desenvolvimento da mama durante o período da puberdade, principalmente por meio de mecanismos parácrinos (TRABERT *et al.*, 2020).

Esses mecanismos parácrinos se dão ao fato que a progesterona estimula o epitélio mamário, sendo um fator de risco, pois promove a progressão pré-neoplásica por meio da estimulação de proliferação cíclica de pools de células-tronco mamárias ou células iniciadoras de tumor oculto no epitélio mamário adulto (TRABERT *et al.*, 2020). Sabe-se, ainda, de fato que, alguns progestagênicos sintéticos exógenos administrados com estrogênio, usado na terapia hormonal da menopausa ou como contracepção aumenta o risco de CM, e conseqüentemente houve um declínio no uso desses agentes para aliviar os sintomas da pós-menopausa (CHAGAY; MKRTUMYAN; 2019).

Outros hormônios, como níveis elevados de andrógenos circulantes estão correlacionados ao aumento do risco de CM, mas o mecanismo subjacente não é claro. Sugere-se que os andrógenos podem aumentar o risco por meio da aromatização aos estrogênios, ou diminuir o risco exercendo efeitos antiestrogênicos e antiproliferativos via sinalização do Receptor de Andrógeno (AR) (TRABERT *et al.*, 2020; NARAYANAN; COSS; DALTON, 2015).

A prolactina é outro hormônio que interage com a progesterona e seus receptores para influenciar a proliferação de células epiteliais ductais e luminais. A prolactina pode agir influenciando a hierarquia das células epiteliais via feedback RANKL por meio de células tronco mamárias e progenitores luminais (LI *et al.*, 2021).

Na mama, o estrogênio pode agir por vários mecanismos: aqui serão discutidos a principal forma do estrogênio, o 17β -estradiol (E2), que é utilizado como um substrato para as enzimas de fase I citocromo P50 (CYP) 1A1 e 1B1, e como um ligante para o receptor de estrogênio (RE). Em seu duplo papel de substrato e ligante, E2 tem sido implicado no desenvolvimento do CM pela forma como simultaneamente causa danos ao DNA através de seus produtos de oxidação, os estrógenos catecol 2-OH e 4-OH, e pela forma como estimula células de proliferação e expressão gênica via RE. Assim, E2 e seus metabólitos oxidativos são carcinógenos únicos que afetam tanto a iniciação quanto a promoção do tumor, nos dois primeiros estágios da carcinogênese (TRABERT *et al.*, 2020; SAMAVAT; KURZER, 2015).

2.3.4 Fatores de Transcrição

Os oncogenes codificam fatores de transcrição, logo essa expressão desregulada ou ativada, bem como mutada e translocada, são importantes na tumorigênese. A maioria dessas vias de sinalização oncogênicas permite que haja conjuntos de fatores de transcrição que controlam o padrão de expressão gênica da célula, resultando em desenvolvimento tumoral, progressão e metástase (ZACKSENHAUS *et al.*, 2017).

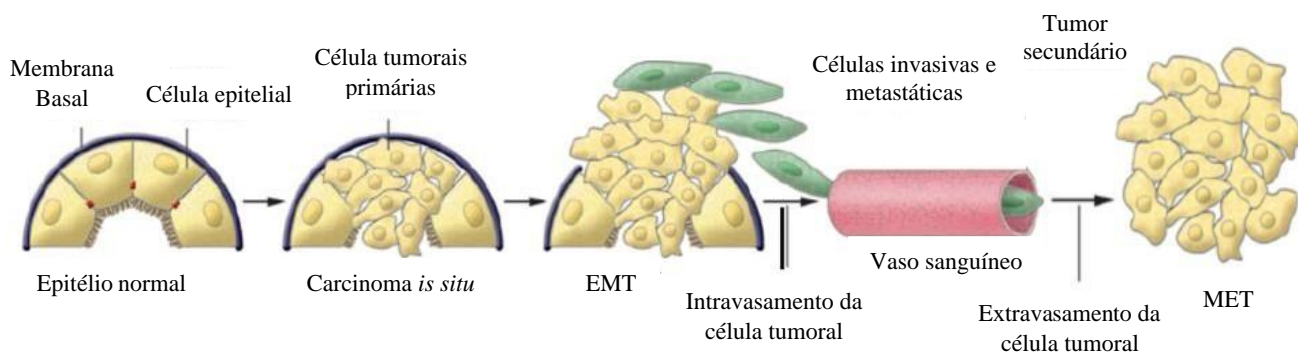
No crescimento embrionário, é percebido um processo de migração e diferenciação celular, chamado de Transição Epitélio-Mesenquimal (EMT) tipo I, cuja sua principal função é o controle da morfologia celular e arquitetura durante a reorganização dos folhetos embrionários e migração das células da crista neural (HU *et al.*, 2019). Desse modo, acontecem alterações que ocorrem na morfologia, capacidade de migração e adesão das células epiteliais para um fenótipo mesenquimal (HU *et al.*, 2019; BUITRAGO; UEMURA; SENA, 2011).

Algumas moléculas estão envolvidas nesse processo, são elas: E-caderina, Claudinas e Ocludinas, que são moléculas de adesão, e N-caderina, Vimentina e Fibronectina, que são marcadores de fenótipo mesenquimal. Além disso, ocorre ainda, a secreção de metaloproteinases (MMPs). Todas essas mudanças são reguladas e controladas por alguns fatores de transcrição, como, Slug (Snail2), Snail (Snail), Twist1 e Sipl (Zeb2) (KALLURI e WEINBERG 2009).

Pacientes com carcinomas metastáticos tem altos níveis de expressão dos fatores indutores da EMT, como, por exemplo Slug, Snail, Twist1 e Sipl, e conseqüentemente um pior prognóstico. Isso porque, a EMT é direcionada como o melhor mecanismo que explica essas mutações fenotípicas que acontecem durante o processo metastático (KALLURI e WEINBERG 2009).

Nas neoplasias mamárias, os fatores indutores da EMT envolvem principalmente às regiões E-boxes presentes no promotor do gene CDH1, que faz a codificação para E-caderina, assim, impedindo o acesso da maquinaria de transcrição a essa região, o que acarreta uma menor expressão gênica da E-caderina, principal componente das junções aderentes. Com isso, as junções celulares tornam-se fracas, fazendo com que haja um aumento na possibilidade de a célula migrar de seu sítio de origem e invadir outros órgãos e tecidos (Figura 4) (KALLURI e WEINBERG 2009).

Figura 4 - Processos EMT e MET na metastatização dos tumores.



Fonte: Adaptado de KALLURI e WEINBERG (2009).

2.4 Tratamento para o câncer de mama

O tratamento para as neoplasias mamárias vai depender do estadiamento da doença e das condições do paciente, e pode ser classificado em: local, sistêmico, adjuvante e neoadjuvante. A terapia local, que compõe a avaliação do acometimento axilar, cirurgia e radioterapia, visa a recuperação do paciente por meio de procedimentos na região afetada, fazendo com que tenham pouco impactos nas outras regiões do corpo humano (ROSSI; MAZZARA; PAGANI, 2019).

O tratamento sistêmico é conduzido por meio de medicamentos, que são administrados por via oral ou endovenosa, que visa afetar células cancerígenas em qualquer parte do corpo (que pode já estar com metástase). A Quimioterapia (QT), terapia hormonal, terapia alvo e imunoterapia, fazem parte do tratamento sistêmico (SHRESTHA *et al.*, 2020)

2.4.1 Cirurgia

O tratamento de CM nos estágios iniciais pode oferecer diversas opções diferentes, como, por exemplo cirurgia, radioterapia, QT e hormonioterapia. A cirurgia é considerada o principal tratamento seguido por diferentes terapias (KAUFMAN, 2019). A cirurgia é a ressecção cirúrgica do tumor e utiliza a mastectomia ou mastectomia parcial (uma opção cirúrgica que tenta preservar o tecido saudável que o cerca) (KAUFMAN, 2019).

Os tratamentos cirúrgicos, no entanto, vão depender de algumas características, como o estadiamento clínico e do tipo histológico do tumor, podendo ser conservador com a ressecção de um segmento da mama, com retirada dos gânglios axilares ou linfonodo sentinela; e ainda não conservadora, por meio dos diferentes tipos de mastectomia, que pode ser: simples,

radical, radical modificada, com reconstrução imediata, e poupadora de pele (HOUSSAMI; TURNER; MORROW, 2017).

2.4.2. Radioterapia

A radioterapia consiste em utilizar raios X de alta energia, que são administrados geralmente após a cirurgia, para atacar e destruir as células cancerígenas que ainda circundam o tecido. A radioterapia, ainda pode ser dividida em: externa e interna (BRADLEY, Julie A.; MENDENHALL, 2018). A primeira utiliza um mecanismo que mantém uma distância do paciente, ou seja, o equipamento fica fora do corpo enviando radiação até o câncer, já a segunda opção do tratamento pela radioterapia, podem ser usados agulhas ou cateteres para colocar uma substância radioativa diretamente em exposição no local do câncer (TAKATA *et al.*, 2020; ELDESOKY *et al.*, 2016).

Logo, radioterapia interna (braquiterapia) tenta irradiar o local do tumor, já a externa, pode abranger toda a mama (GARCÍA; ALONSO, 2017; PISCONTE, 2017; COSTA, 2018).

2.4.3 Quimioterapia

O tratamento quimioterápico no CM é amplamente utilizado para a redução de recidivas, o principal objetivo é à sobrevida e qualidade de vida das mulheres com câncer de mama. Ainda pode ser classificado e dividido em adjuvante, neoadjuvante e paliativo (FISUSI; AKALA, 2019).

A QT adjuvante é administrada após a cirurgia para eliminar micro metástases, é recomendada para casos iniciais e ainda ajuda a reduzir a recorrência e a mortalidade do CM não-metastático (CMNM) (PONDÉ; ZARDAVAS; PICCART, 2019; SHIEN; IWATA, 2020).

O principal benefício ocorre em pacientes pré-menopáusicas, que apresentam axila positiva e receptores hormonais negativos, podendo gerar um aumento de 11 a 12% da sobrevida global em dez anos nesses pacientes. Já em pacientes pós-menopáusicas com axila negativa e receptores hormonais positivos, essa taxa cai para 2 a 3%. Os esquemas quimioterápicos que mais são utilizados no tratamento do CMNM são: taxanos, antraciclinas, esquemas sem antraciclinas e QT dose-densa (FISUSI; AKALA, 2019).

2.5 Quimioterapia neoadjuvante para o câncer de mama

A abordagem neoadjuvante para CM, depende de alguns fatores, como estadiamento do tumor, prognóstico do paciente, história clínica, entre outros. O CM é subdividido em tumores iniciais (estádios IA, IB, IIA e IIB), localmente avançados (estádios IIIA, IIIB e IIIC) e metastáticos (estádio IV). E partir dessa divisão, é possível ter uma aplicação terapêutica mais efetiva, como, por exemplo, em tumores iniciais, com um prognóstico melhor, a mastectomia (cirurgia) seguido de QT, é mais indicada (WANG *et al.*, 2021).

Logo, a Quimioterapia Neoadjuvante (QTNA), é mais indicada em pacientes que apresentam estágios localmente avançados, e em pacientes que não são candidatas a cirurgia conservadora (SHIEN; IWATA, 2020).

O principal objetivo QTNA é tentar ser efetiva na diminuição/redução do volume tumoral antes da cirurgia, para que possa possibilitar a retirada do tumor em um procedimento menos extenso (DA COSTA; CHAGAS, 2013). As principais indicações da QTNA estão listadas no Quadro 1. No entanto, sabe-se que na sobrevida global do paciente com CM não há uma melhor taxa significativa utilizando a QTNA (WANG *et al.*, 2021).

Quadro 1. Indicações de quimioterapia neoadjuvante no câncer de mama operável

QTNA já pode ser considerada uma opção padrão de tratamento para o câncer de mama operável na prática clínica
Tumores operáveis relativamente grandes (T3)
Pacientes que desejam cirurgia conservadora e a relação tamanho do tumor/tamanho da mama é desfavorável
Pacientes com axila clinicamente comprometida, que podem se beneficiar de “ <i>downstaging</i> ” axilar
Pacientes com tumores com características biológicas que favoreçam a indicação de quimioterapia (ex.: triplo negativo, HER2+, luminal B)
Pacientes tratadas em centros de pesquisa (oportunidade para testar novas drogas e alvos terapêuticos)

Fonte: Modificado de DA COSTA; CHAGAS, 2013.

Concomitantemente, outro objetivo interessante sobre a QTNA, é poder diminuir o comprometimento axilar “downstaging” aumentando a possibilidade de cirurgia conservadora. A taxa de resposta objetiva com QTNA gira em torno de 80%) com Resposta Completa Patológica (pRC) variando entre 4 e 31%, que pode variar de acordo com as características dos indivíduos e o próprio esquema terapêutico (HEIL *et al.*, 2020).

Em tumores com <4cm a possibilidade de conservação da mama, pode chegar em até 90%, mas para isso, é preciso ser criterioso na escolha dos pacientes, e com uma equipe multidisciplinar, o procedimento se torna seguro e QTNA não aumenta o risco de recidiva local. Em pacientes com tumores mais agressivos, no caso o HER-2 positivo ou triplo negativo, a obtenção de pRC melhorar a sobrevida das pacientes (DA COSTA; CHAGAS, 2013).

Somando a isso, os estudos com os tratamentos neoadjuvante permitem o aprimoramento e desenvolvimento de fatores preditivos de resposta com um planejamento do tratamento mais efetivo, oferecendo então um tratamento mais personalizado (HEIL *et al.*, 2020).

Os principais fármacos utilizados na neoadjuvância são antracíclicos e taxanes, utilizados sequencialmente, devendo os antracíclicos serem restritos apenas em pacientes com contraindicação, como no caso de cardiopatas (DA COSTA; CHAGAS, 2013). A introdução dos demais quimioterápicos, como Vinorelbine, Capecitabina ou Gencitabina mostram resultados heterogêneos na neoadjuvância (DA COSTA; CHAGAS, 2013).

2.6 Fator de Crescimento semelhante a Insulina-1 (IGF-1) e sua relação com o desenvolvimento e metástase do câncer

O sistema IGF inclui os ligantes IGF-I e IGF-II, os receptores do tipo 1 e tipo 2 de IGF (IGF-IR e IGF-IIR, respectivamente), receptor tirosina quinase, as proteínas ligadoras de IGF (IGFBP1 a 6) e as proteínas intracelulares sinalizadoras associadas ao IGF-IR, que incluem os membros da família do IRS (Substrato receptor de insulina), AKT (proteína quinase B), TOR (alvo da rapamicina) e a S6K (proteína S6 quinase) (YERUSHAMI *et al.*, 2012; JONES *et al.*, 2003) (Figura 3). A IGF-I apresenta concentrações sistematicamente aumentadas, em paralelo com o crescimento pós-natal e puberal, declinando após a interrupção do crescimento e voltando a aumentar na velhice.

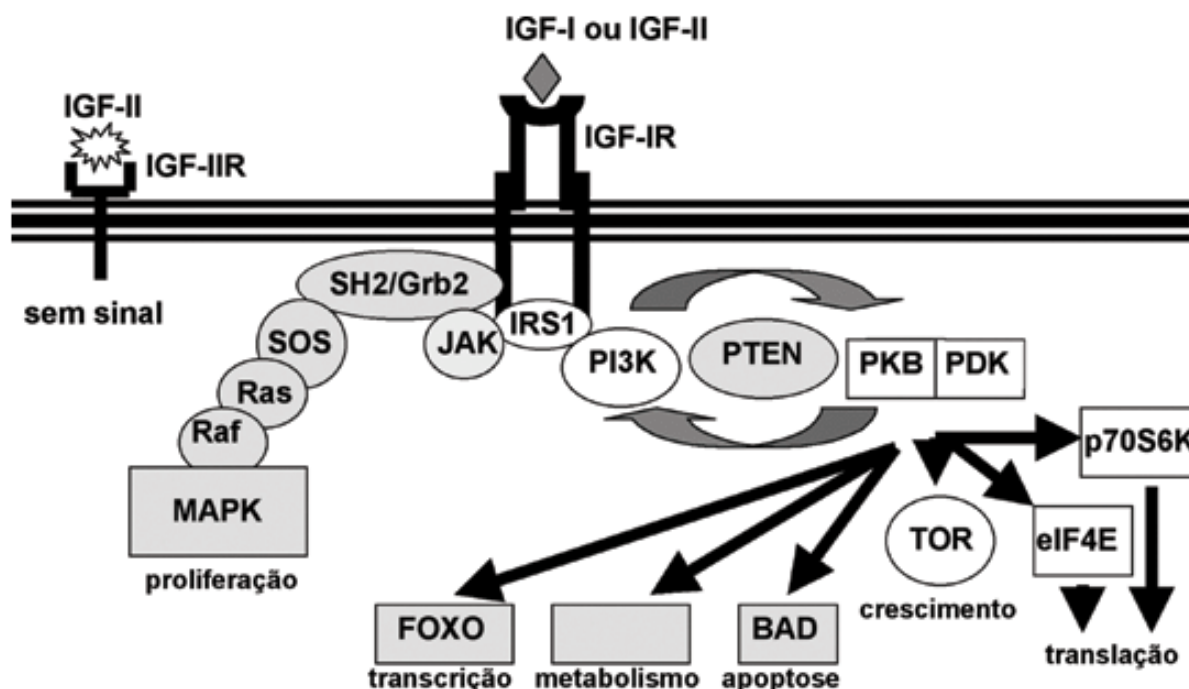
A IGF-II está expressa em altas concentrações em embriões, mas, após o nascimento, continua a ser expressa e secretada pelo fígado, estando presente durante toda a vida (ZHANG *et al.*, 2005).

As IGFs são transportadas para as células-alvo em complexo com as IGFbps, diferentemente da insulina, o que prolonga sua meia-vida e modula sua interação com a superfície de membrana dos receptores. A IGFbp3, entre as IGFbps, é a forma circulante mais abundante, responsável pela maior parte da capacidade de ligação às IGFs, em especial à IGF-I (HAMELERS *et al.*, 2003). A atividade biológica do IGF-1 e IGF-2 depende da ligação com as proteínas ligadoras de IGF (IGF-BPs), principalmente IGFbp3.

Ambos os IGFs ligam o IGF-1R e ativam a proteína quinase por Ras/mitogen ativada (MAPK) e a quinase fosfatidylinositol-3 (PI3K)/via AKT, através do qual a proliferação celular é estimulada e a apoptose é inibida, respectivamente (ZHU *et al.*, 2011).

Além disso, o IGF-1R e o receptor de estrogênio (ER) tem se mostrado trabalhar sinergicamente, pelo qual ER ativado liga às regiões promotoras do IGF1R para promover a transcrição e o IGF-1 é capaz de ativar o ER não ligado (MAOR *et al.*, 2006). No câncer de mama, a expressão positiva de IGF-1R é correlacionada com a presença do ER (FOEKENS *et al.*, 1989). Aproximadamente 40 a 60% de tumores ER-positivos expressam IGF-1R, enquanto a expressão em tumores ER-negativos é de apenas 10 a 20% (YERUSHALMI *et al.*, 2012).

Figura 5 – Representação simplificada dos componentes intracelulares do sistema IGF e suas ações.



Fonte: Castro; Guerra-Júnior (2005).

Em geral, IGF-1R se correlaciona com bons marcadores de prognóstico, como positividade de ER, idade avançada, grau inferior e negatividade para HER2. Contudo, sua expressão tem efeitos diferenciais nos diferentes subtipos de CM. Por exemplo, a expressão de IGF 1R mostrou ser positivamente correlacionada com a melhor sobrevivência específica do CM entre pacientes com tumores ER positivos, enquanto sua expressão foi associada a um prognóstico inferior em pacientes com superexpressão de HER2 ou tumores triplo-negativos (PAPA *et al.*, 1993).

Além disso, a expressão de IGF-1R pode mudar durante o tratamento do câncer de mama. Estudos pré-clínicos mostraram que a expressão de IGF-1R pode ser regulada positivamente por estrogênio e regulada negativamente por tamoxifeno (FAGAN *et al.*, 2012). O IGF-1R também pode desempenhar um papel na resistência a vários tipos de tratamento. Por exemplo, a hiperativação de IGF-1R mostrou estar envolvida na resistência à cisplatina de células de câncer de ovário, enquanto em células de câncer de mama e colorretal, IGF-1R foi associado à resistência a 5-fluorouracil (5- FU) (ECKSTEIN *et al.*, 2019). Ademais, a conversão cruzada entre HER2 e IGF-1R pela formação de heterodímeros podem contribuir para a resistência ao trastuzumabe (NAHTA *et al.* 2005).

2.7 Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM-SNP)

O polimorfismo genético é entendido como uma alteração no gene, e deve estar presente em pelo menos 1% da população. Os Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos (SNPs) são pontos específicos alterados por um único par de bases nitrogenadas, sendo uma variação genética muito comum no genoma humano (CAMPOS-VERDES *et al.*, 2018).

Na maioria das vezes que ocorrem uma mudança por um SNPs, são em partes e regiões do DNA que não afetam a função de um gene específico. Mas, quando se localizam em regiões críticas que são de extrema importância para o funcionamento da célula, podendo alterar o ciclo celular, a sinalização celular, incompatibilidade de DNA, níveis de proteínas oncogênicas e supressoras de tumor, e conseqüentemente passar a replicar um gene defeituoso que aumente à susceptibilidade ao câncer (ELLEGREN; GALTIER, 2016).

Desse modo, o estudo dos SNPs em determinadas populações, pode ser eficaz em saber e prever a suscetibilidade genética para o aparecimento de doenças poligênicas, como as Doenças Crônicas não Transmissíveis (ELLEGREN; GALTIER, 2016). Logo, do ponto de vista clínico os SNPs podem ser usados como potenciais biomarcadores de diagnósticos e

terapêuticos em vários tipos de câncer (ELLEGREN; GALTIER, 2016).

Vale ressaltar que os testes de Pontuação de Risco Poligênico (PRS), com painéis de SNPs de risco, têm se tornando uma ferramenta que pode auxiliar na detecção e prevenção precoce no processo de câncer (CURA *et al.*, 2021).

2.7.1 Polimorfismos genéticos na patogênese do câncer

Os avanços na biologia celular e molecular do câncer permitiram o diagnóstico precoce e o tratamento mais abrangente e específico do CM. No entanto, continua a ser a causa mais comum de morte por câncer em mulheres em todo o mundo devido à sua forte agressividade e metástase. O estudo aprofundado da patogênese molecular do CM e de biomarcadores prognósticos relevantes melhoraria a qualidade de vida e o prognóstico dos pacientes (CURA *et al.*, 2021).

Desse modo, vários polimorfismos estão associados um risco aumentado para o CM, e se torna importante avaliar esses SNPs para um rastreamento mais preciso na população, a fim de identificar casos precocemente e implantar o melhor tratamento clínico.

O gene PTEN (Phosphatase with Tensin Homology Deleted in Chromosome), localizado no cromossomo 10, na posição 23 (10q23), age como um defensor da integridade genômica. Por ser um gene supressor tumoral, PTEN desempenha um papel importante na manutenção da estabilidade cromossômica. Concomitantemente, o gene PTEN está ausente na maioria dos pacientes com CM, especialmente CM triplo-negativo. A perda de PTEN, e ou os polimorfismos associados a esse gene, junto com a fosforilação ativam AKT, e a ativação regula a via PI3K/AKT, que afeta a progressão do CM e o prognóstico do paciente (RICH *et al.*, 2015; APOSTOLOU; FOSTIRA, 2013).

O SNP rs3803662 do gene TOX3 (High Mobility Group box Family Member) localizado no cromossomo 16, na posição 12.1 (16q12.1) desempenha um papel importante na ocorrência e desenvolvimento do CM. O gene TOX3 está envolvido no processo de transcrição, e está mais presente em tumores luminiais, e age como regulador. A associação do TOX3 e o CM fornece um pior prognóstico e aumentou o risco recorrente em desenvolver câncer de mama em quase 3 vezes mais (HE *et al.*, 2019).

O polimorfismo rs2242652 do gene hTERT (Transcriptase Reversa da Telomerase) localizado no cromossomo 5, na posição 15.33 (5q15,33) está associado com risco global de CM, isso porque, as variantes gênicas desse gene podem diminuir o comprimento dos telômeros das células, que modifica o tempo de vida natural da célula, e desregula os mecanismos de

parada e reparo do ciclo celular. Além disso, os pacientes com esse polimorfismo apresentam um pior prognóstico de tumores triplo negativos (RASOULI; ZARGHAMI, 2018).

2.7.2 Expressão do polimorfismo do gene IGF1R (rs2016347) e sua relação com o câncer de mama

De Groot *et al.* (2016) buscaram identificar variantes genéticas que influenciassem na expressão de IGF-1 em pacientes com CM e identificou o alelo T variante de 3129G>T no IGF-1 (rs2016347), associando-o a uma melhor resposta patológica na análise multivariada ($P = 0,032$). A expressão ausente ou diminuída de IGF-1R após QTNA foi associada a uma melhor resposta patológica.

Alguns estudos ainda associam o alelo T do SNP rs2016347, com outras patologias, como, por exemplo, os estudos de corte de Powell e colaboradores (2020), identificou que o alelo T dessa mesma variante diminuiu de forma significativa o risco de CM em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia com idade até 30 anos. O mecanismo pelo qual ocorre a interação desse genótipo e a proteção ao CM, se dá ao fato que esse alelo pode causar algumas interações, tanto em fatores de crescimento, como reduzir níveis de estrógeno, entre outros mecanismos envolvendo os microRNAs de IGF-1R (POWELL *et al.*, 2017).

Além disso, outros estudos epidemiológicos mostraram uma relação entre altos níveis circulantes de IGF-1, densidade mamária e risco de CM. Níveis aumentados de IGF-1 estão associados a uma elevada mortalidade e à resistência inerente a tratamentos antitumorais em estudos pré-clínicos (DE GROOT *et al.*, 2016, KURODA *et al.*, 2015; SARKISSYAN *et al.*, 2014). Portanto, o conhecimento da expressão do IGF-1 torna-se uma estratégia interessante para uma melhor compreensão do comportamento da doença e da resposta terapêutica.

3 JUSTIFICATIVA

O Câncer de Mama (CM) possui grande impacto na morbidade e mortalidade de mulheres em todo o mundo, tornando-se importante o conhecimento do comportamento da doença e de sua resposta terapêutica. Existem diversos subtipos moleculares do CM, cada um possui uma característica que difere na terapêutica a ser adotada, por exemplo, o subtipo molecular Tripo Negativo não respondem de forma efetiva à determinados tratamentos, podendo acarretar um pior prognóstico e qualidade de vida nesses pacientes. Nesse sentido, a identificação de biomarcadores que possam influenciar a abordagem medicamentosa pode ser uma ferramenta útil para o seguimento clínico dessas pacientes.

Uma vez estabelecida a influência do IGF-1R no tratamento quimioterápico do câncer de mama, poderemos selecionar pacientes que possam se beneficiar com o auxílio de drogas capazes de inibir a sua via de expressão, impactando diretamente na possível eficácia do tratamento (De Groot *et al.*, 2016).

Dessa maneira, a presente proposta tem importante impacto científico e social, uma vez que a busca do conhecimento de biomarcadores que possam influenciar na resposta terapêutica tem se mostrado uma estratégia promissora para o tratamento do CM, podendo impactar diretamente na morbidade e mortalidade dessa enfermidade e avançando no diagnóstico e regimes terapêuticos da doença.

Assim, caso seja encontrada uma associação significativa de algum genótipo específico deste polimorfismo com resposta à Quimioterapia Neoadjuvante (QTNA) em mulheres com CM, este poderia ser considerado um novo marcador oncogênico que modificaria a conduta médica, frente as mulheres portadoras dessa neoplasia.

4 HIPÓTESES

O polimorfismo no receptor do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF1R) e a regulação da sua expressão pode influenciar a resposta à quimioterapia (QT) em mulheres com câncer de mama(CM).

O polimorfismo do gene IGF-1R (rs2016347) pode estar relacionado com o CM e sua identificação prévia pode ser útil como medida de prevenção primária dessa doença.

Existe uma associação significativa do polimorfismo do gene IGF-1R, notadamente o alelo rs2016347, em mulheres com CM e esse fator pode ser considerado como um biomarcador genético na patogênese deste tipo de câncer, possibilitando a identificação da suscetibilidade à doença e uma detecção precoce às manifestações clínicas

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

- Avaliar a associação entre o polimorfismo (rs2016347) do receptor 1 do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1R) com a resposta à quimioterapia neoadjuvante em mulheres com câncer de mama (CM) acompanhadas no serviço de mastologia da Santa Casa de Sobral – Ceará

5.2 Objetivos específicos

- Verificar a distribuição genotípica desse polimorfismo genético (IGF1R - rs2016347) em mulheres brasileiras com CM acompanhadas no serviço de mastologia da Santa Casa de Sobral – Ceará
- Avaliar a correlação desse polimorfismo genético com os achados patológicos e imunohistoquímicos nas pacientes com CM.
- Correlacionar o perfil epidemiológico aos genótipos do SNP rs2016347 na quimioterapia neoadjuvante

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional e prospectivo de mulheres com diagnóstico histopatológico de Câncer de Mama (CM), estágio clínico II ou III, sem tratamento prévio, submetidas à Quimioterapia Neoadjuvante (QTNA) acompanhadas no serviço de mastologia da Santa Casa de Sobral – Ceará.

6.2 Local de estudo

O estudo foi realizado com pacientes em tratamento atendidas no serviço de mastologia da Santa Casa de Misericórdia de Sobral – CE. Após a coleta, as amostras foram armazenadas no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução (LABIREP) e Laboratório de Biologia Molecular que compõe a rede NUBIS (Núcleo de Biotecnologia de Sobral – Universidade Federal do Ceará – Campus Sobral). O ensaio laboratorial foi realizado no laboratório de biologia molecular e do desenvolvimento localizado no núcleo de biologia experimental (NUBEX) da Unifor.

6.3 População e amostra

Foram colhidas amostras de escovado de mucosa bucal com escova do tipo cytobrush® de 40 mulheres com diagnóstico de CM, estágio clínico II ou III submetidas a QTNA.

O tamanho da amostra foi definido com base em resultados preexistentes que encontraram associação significativa de polimorfismos específicos do gene IGF1R com resposta a QTNA (De Groot *et al.*, 2016).

O diagnóstico de carcinoma de mama foi realizado inicialmente através de exame clínico e radiológico (mamografia e/ou ultrassonografia), sendo posteriormente confirmado pelo estudo histopatológico da peça cirúrgica. O estadiamento utilizado foi o (TNM) da American Joint Committee on Cancer que utiliza três critérios para avaliar o estágio do câncer: o próprio tumor, os linfonodos regionais, e se ocorreu disseminação do tumor para outros órgãos. TNM é abreviatura de tumor (T), linfonodo (N) e metástase (M). Para cada classificação, existem subcategorias representadas por números. Para o T temos subcategorias

de 1 a 4; N, 0 a 3 e M, 0 a 1. Estas combinações possibilitam a classificação do estágio do tumor.

Figura 6 – Novo estadiamento do câncer de mama TNM 8ª Edição.

ESTÁGIO	TNM
0	Tis N0 M0
IA	T1 N0 M0
IB	T0 N1mi M0 T1 N1mi M0
IIA	T0 N1 M0 T1 N1 M0 T2 N0 M0
IIB	T2 N1 M0 T3 N0 M0
IIIA	T0 N2 M0 T1 N2 M0
	T2 N2 M0 T3 N1 M0 T3 N2 M0
IIIB	T4N0 T4N1 T4N2
IIIC	TX N3 M0
IV	TX NX M1

Fonte: Adaptado Manual de Oncologia Clínica do Brasil, 2019.

A avaliação final da resposta à quimioterapia (QT) foi realizada através da análise patológica da peça operatória, após o último ciclo de QT.

6.4 Critérios de inclusão e exclusão

6.4.1 Critério de inclusão

- Mulheres com confirmação histopatológica de CM, com estágio clínico II ou III.

6.4.2 Critérios de exclusão

- Mulheres que não concluíram o esquema completo de QT.
- Mulheres grávidas ao diagnóstico ou no decorrer do tratamento.
- Homens com CM.
- CM metastático.

- CM bilateral .

6.5 Coleta de dados

Para obtenção do DNA genômico e avaliação do polimorfismo rs2016347 do gene IGF-1R, foram colhidas amostras de raspado bucal utilizando escova cytobrush®, no período de outubro/2022 a dezembro/2022, mediante assinatura de termo de consentimento pelas pacientes envolvidas no estudo, após liberação da Comissão de Ética em Pesquisa da Instituição. O termo de consentimento foi elaborado em duas vias ficando uma com a participante da pesquisa e o outro com o pesquisador.

Para a coleta dos dados demográficos e clínicos foi utilizado um formulário padronizado (ANEXO A), permitindo identificar parâmetros como: idade materna, estado civil, profissão, raça, antecedentes ginecológicos e obstétricos tais como menarca, menopausa, idade do primeiro filho, número de gestações e história familiar de (CM).

Foram avaliadas também as características clínicas, anatomopatológicas e imunohistoquímicas, além da terapêutica instituída previamente assim como a resposta à QTNA das mulheres com CM e sua correlação com o polimorfismo do gene IGF1R.

Foi utilizado formulário padronizado para a coleta dos dados referentes ao estudo de todas as pacientes que, foram posteriormente transferidos para planilha eletrônica (Excel – Microsoft Office 2007).

Foram avaliadas as características clínicas e anatomopatológicas das mulheres com CM através do exame físico e análise de prontuário das mesmas e a correlação com a resposta à QTNA diante do polimorfismo IGF1R no receptor do fator de crescimento semelhante à insulina.

6.6 Ensaio Laboratorial

6.6.1 Extração de DNA

As amostras dos raspados bucais obtidas foram armazenadas a -80 °C até posterior extração de DNA genômico. A extração do DNA foi realizada utilizando-se o PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific - K182002), seguindo protocolo do fabricante. Em um tubo de 1,5 mL, misturou-se 50 µL de saliva com 50 µL de tampão de lise. As amostras foram aquecidas a 95 °C por 3 minutos em um bloco pré- aquecido. Em seguida,

as amostras foram mantidas a temperatura ambiente por 1 minuto e então foram adicionados 50 μL de solução tampão estabilizante. O material foi centrifugado por 1 minuto a 10.000 g a temperatura ambiente e em seguida a concentração de DNA em cada amostra foi quantificada utilizando-se o kit Qubit dsDNA Assays Broad Range (Promega). O DNA obtido e quantificado foi genotipado utilizando a técnica de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR).

6.6.2 PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR)

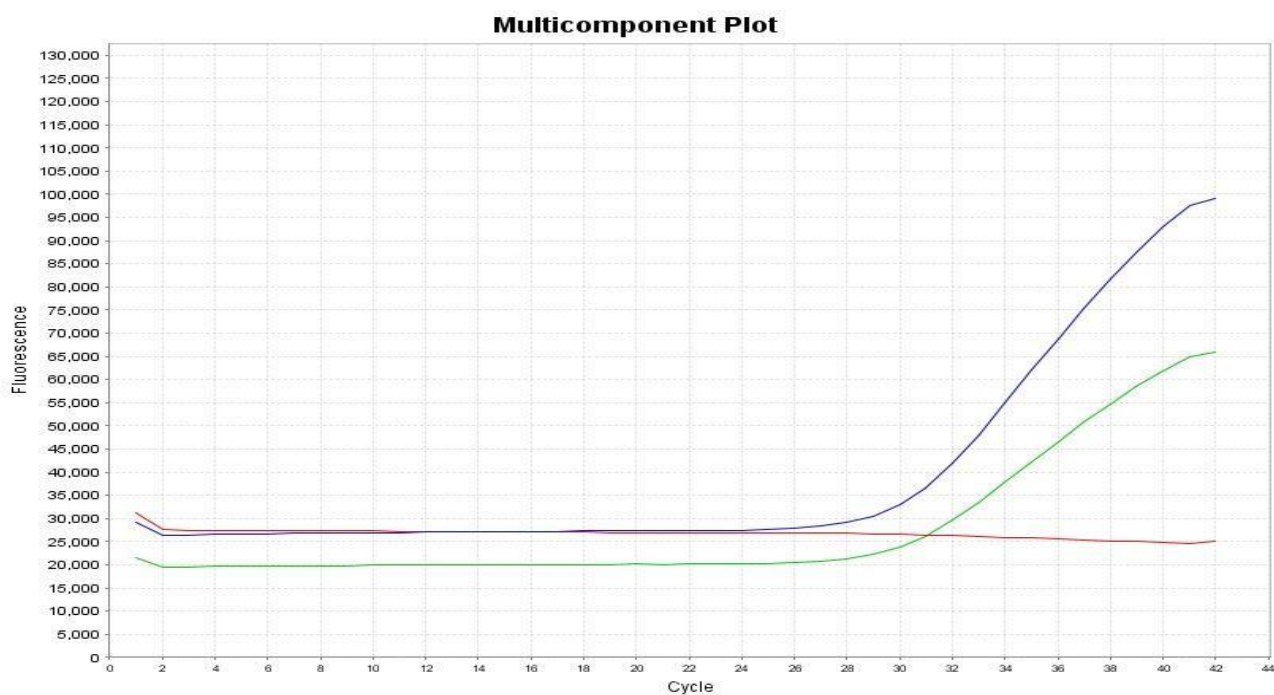
O método de RT-qPCR foi usado para a determinação do polimorfismo do IGF1R por meio de um equipamento que associa um termociclador a um leitor de fluorescência capaz de medir a luz proveniente de uma reação de amplificação. A metodologia utilizou fluoróforos do tipo TaqMan®, que correspondem a sondas de hibridização utilizadas para detectar sequências específicas no DNA amplificado na qPCR.

Para as PCR de genotipagem foram utilizadas placas de 48poços em um volume total de 10 μL /poço. Cada reação foi preparada contendo 5 μL TaqMan GTXpress Mix (2x) (Thermo Fisher), 0,25 μl TaqMan SNP Genotyping Assay (40x) (Thermo Scientific), 2 μL DNA genômico a 1,5 ng/ μL , e 2,75 μL H₂O ultrapura. Os ciclos térmicos foram de 95 °C por 20 segundos para ativação da polimerase e 40 ciclos de: desnaturação a 95 °C por 3 segundos e anelamento/extensão a 60 °C por 90 segundos. O reagente TaqMan GTXpress Mix é composto por AmpliTaq® Fast DNA Polymerase, UP, dNTPs, Tracking Dye e ROX™ dye.

Após o preparo do mix de reação e da placa com as amostras específicas, estas foram pré-lidas em um instrumento de PCR em Tempo Real StepOnePlus (Applied Biosystems). Após a pré-leitura, os ciclos termais foram realizados para amplificação das amostras de DNA para a genotipagem das pacientes. Ao final, foi realizada uma pós-leitura (da qual foram descontados os valores iniciais de fluorescência em cada amostra), que iria ser analisada através do StepOne™ Software v. 2.3 para a discriminação alélica. A distribuição genotípica envolveu 3 formas de variantes: heterozigoto (GT), representada na figura 6, homozigota (GG), representada na figura 7 e homozigoto (TT), representada na figura 8. Cada genótipo foi avaliado sob modelos de hereditariedade genética (dominantes, recessivos e codominantes).

A quantificação do produto amplificado foi realizada através de comparação com uma curva padrão que correlaciona a intensidade dos sinais de fluorescência gerados durante ciclos de amplificação com as concentrações conhecidas de uma sequência idêntica à que se quer quantificar.

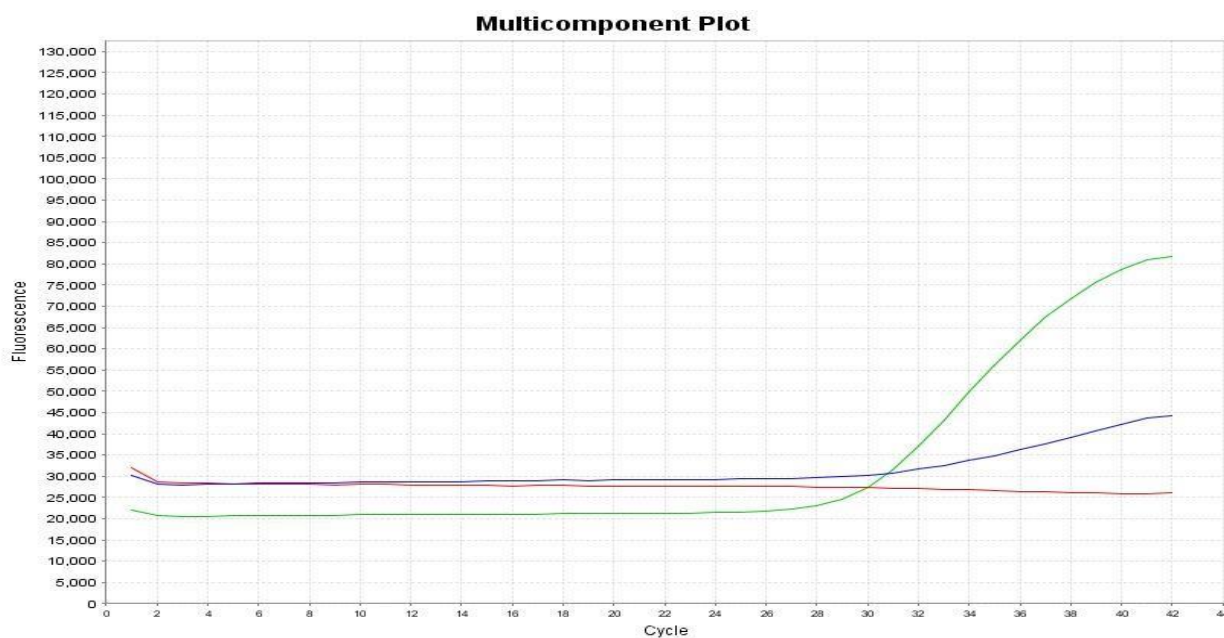
Figura 7 - Padrão heterozigoto (GT)



Legendas: ■ Homozigoto Alelo T ■ Linha de Base ■ Homozigoto Alelo G

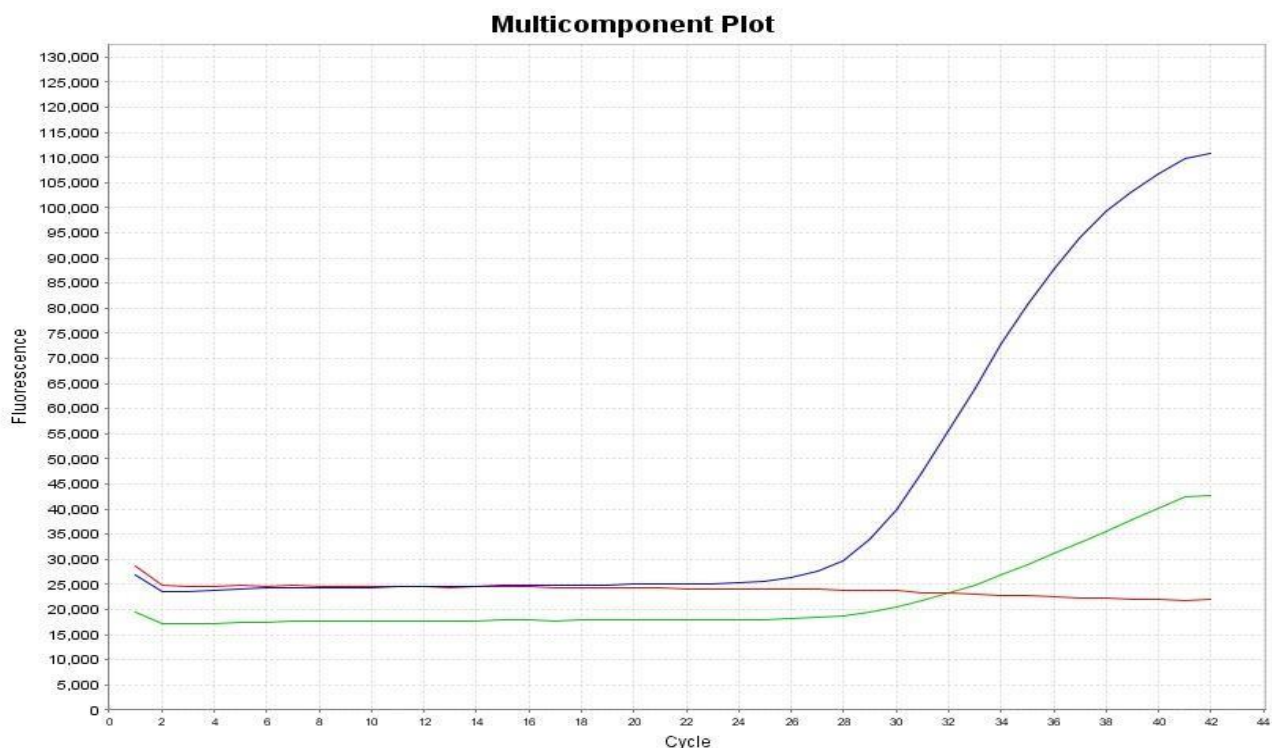
Fonte: O autor (2023).

Figura 8 - Padrão homozigoto (GG)



Legendas: ■ Homozigoto Alelo T ■ Linha de Base ■ Homozigoto Alelo G

Fonte: O autor (2023).

Figura 9 - Padrão homozigoto (TT)

Legendas: ■ Homozigoto Alelo T ■ Linha de Base ■ Homozigoto Alelo G

Fonte: O autor (2023).

6.7 Análise estatística

Os dados foram expressos em forma de média e desvio padrão e, após categorização, em forma de frequência absoluta e percentual e analisados por meio de Teste Exato de Fisher. As análises foram realizadas utilizando o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) vs 29.0 adotando uma confiança de 95%. A significância estatística foi estabelecida em $P < 0,05$.

6.8 Aspectos éticos

O cuidado ético fundamental do estudo foi manter em sigilo o nome das mulheres envolvidas na pesquisa. Todas as informações colhidas foram utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. Para tanto, cada caso foi identificado no instrumento de coleta de dados, apenas pelo número do prontuário, iniciais do nome e número do caso da pesquisa. Foi pedido autorização do fiel depositário (APÊNDICE C) para a pesquisa de prontuários médicos e exames laboratoriais que nele constam assim como foi assinado pelo

pesquisador o termo de compromisso para a utilização de dados (APÊNDICE D). Além disso, o estudo levou em consideração e se adequou a Resolução 466/12, a qual trata das diretrizes regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e seus fundamentos éticos e científicos.

Este projeto de pesquisa foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro Universitário INTA (UNINTA). Todas as pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B), sendo informadas dos riscos e benefícios do estudo. O manejo do material biológico foi assistido pela resolução CNS Nº 441, de 12 de maio de 2011 e foi estritamente utilizado apenas para avaliação genômica que concerne o objetivo deste estudo.

6.9 Riscos e benefícios do estudo

Este estudo visa investigar a distribuição de SNPs em gene IGF1R em pacientes com câncer de mama submetidas à quimioterapia neoadjuvante, avaliando a sua correlação com a resposta clínica. Apesar de não haver benefício direto das pacientes que participarão do estudo, caso encontremos uma associação significativa de algum genótipo específico deste polimorfismo com resposta a quimioterapia neoadjuvante em mulheres com câncer de mama, este poderia ser considerado um novo marcador oncogênico que modificaria a conduta médica, frente as mulheres portadoras dessa neoplasia, principalmente dentro da Região Norte do Ceará.

Os riscos muitas vezes são expressos na forma de desconforto, possibilidade de constrangimento ao responder os instrumentos de coleta de dados, ou pelo simples medo de não saber responder ou de ser identificado com quebra de anonimato e de divulgação de dados confidenciais. Poderemos minimizar estes riscos garantido que o pesquisador seja habilitado ao método de coleta dos dados, estando atento aos sinais verbais e não verbais de desconforto da paciente. Poderemos garantir o anonimato identificando o TCLE com as iniciais da paciente e numeração dos questionários.

A pesquisa utilizou como instrumento para a obtenção das informações a análise dos questionários, desta forma, os possíveis riscos envolvidos são: invasão de privacidade; Discriminação e estigmatização a partir do conteúdo revelado; Divulgação de dados confidenciais (registrados no TCLE); Tomar o tempo do sujeito ao responder ao questionário/entrevista.

No entanto, as seguintes medidas que podem ser adotadas frente aos riscos/danos:

- Será garantido o acesso aos resultados individuais e coletivos.

- Serão minimizados os desconfortos, garantindo a liberdade para não responder questões constrangedoras.
- Será garantido que os pesquisadores sejam habilitados ao método de coleta dos dados.
- Estar atento aos sinais verbais e não verbais de desconforto.
- Será assegurada a confidencialidade, privacidade e a não estigmatização,
- garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas.
- Será garantido que o estudo será suspenso imediatamente ao perceber algum risco ou danos à saúde do sujeito participante da pesquisa, conseqüente à mesma, não previsto no termo de consentimento.
- Será garantida a divulgação pública dos resultados.
- A pesquisa poderá ser convertida em benefícios cujos efeitos continuem a se fazer sentir após sua conclusão.
- Será assegurada a inexistência de conflito de interesses entre o pesquisador e os sujeitos da pesquisa.
- Será garantido que os dados obtidos na pesquisa serão utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo e conforme acordado no TCLE.

7 RESULTADOS

7.1 Características gerais

Nesse estudo foram analisadas 40 pacientes portadoras de Câncer de Mama (CM) que foram submetidas à Quimioterapia Neoadjuvante (QTNA). Metade das pacientes analisadas tinham 50 anos ou mais, não tinham histórico familiar de câncer, não eram tabagistas, tiveram sua menarca em 59% dos casos após os 12 anos (n=23), menopausa após os 45 anos em 44,4% (n=16). A raça mais prevalente foi a parda, presente em 87% (n= 34) e a idade do primeiro parto foi menor que 20 anos em 66,5% (n= 24).

A grande maioria das pacientes apresentavam-se no estágio III 62,5% (n=24), sendo 46,8% (n=18) pacientes no estágio IIIA, e 15,7% (n=6) no estágio IIIB. No estágio IIA apresentavam-se 37,5% das pacientes (n=15), das quais 17,5% (n=7) no estágio IIA, e 20% (n=8) no estágio IIB. Em apenas uma amostra não foi possível identificar o estágio clínico do CM. Ainda, referente à tumoração, foi evidenciado que a maioria dos tumores (53%) apresentava diâmetros menores que 5cm.

Na tabela 2, também estão descritas as características referentes ao tumor, como tumores que apresentam linfonodos axilar positivo único, N1 em 51,3 (n=20). Em relação aos receptores hormonais, em torno de 75% das pacientes (n=30) apresentavam receptores hormonais positivos (RE ou RP), Her2 positivo em 21,1% (n=8) e ki-67 >14% em 29 casos (76,3%). A resposta a QTNA foi avaliada de acordo com o critério RECIST e classificada como parcial em 68,4% (26 casos) e completa em 31,6% (12 casos).

Tabela 2: Categoria das características clínico-epidemiológicas gerais.

Dados epidemiológicos	N	%
Genótipo SNP		
Heterozigoto	20	50,0
Homozigoto T/T	9	22,5
Homozigoto G/G	11	27,5
Idade (53,5±11,85)		
Até 50	20	50,0
Mais de 50	20	50,0
Raça		
Branca	3	7,7
Negra	2	5,1
Parda	34	87,2
Histórico familiar		
Não	24	60,0

Sim	16	40,0
Tabagismo		
Não	25	62,5
Sim	15	37,5
Idade Menarca (12,8±1,35)		
Até 12	16	41,0
Mais de 12	23	59,0
Idade Menopausa (45,5±5,73)		
Até 45	20	55,6
Mais de 45	16	44,4
Idade primeiro parto (20,4±4,85)		
Até 20	24	66,7
21-30	10	27,8
Mais de 30	2	5,6
Dados referentes ao tumor		
T		
1	3	8,1
2	8	21,6
3	20	54,1
4	6	16,2
N		
0	11	28,2
1	20	51,3
2	8	20,5
Receptores hormonais		
Negativo	10	25,0
Positivo	30	75,0
HER2		
Negativo	30	78,9
Positivo	8	21,1
Ki67 (32,9±23,2)		
<15%	9	23,7
>15%	29	76,3
Máximo tamanho (5,3±2,66)		
Até 5 cm	17	53,1
Mais de 5 cm	15	46,9
Máximo tamanho pós QT (4,13±2,71)		
Até 5 cm	11	68,8
Mais de 5 cm	5	31,3
Resposta a QT neoadjuvante		
Parcial	25	67,6
Completa	12	32,4

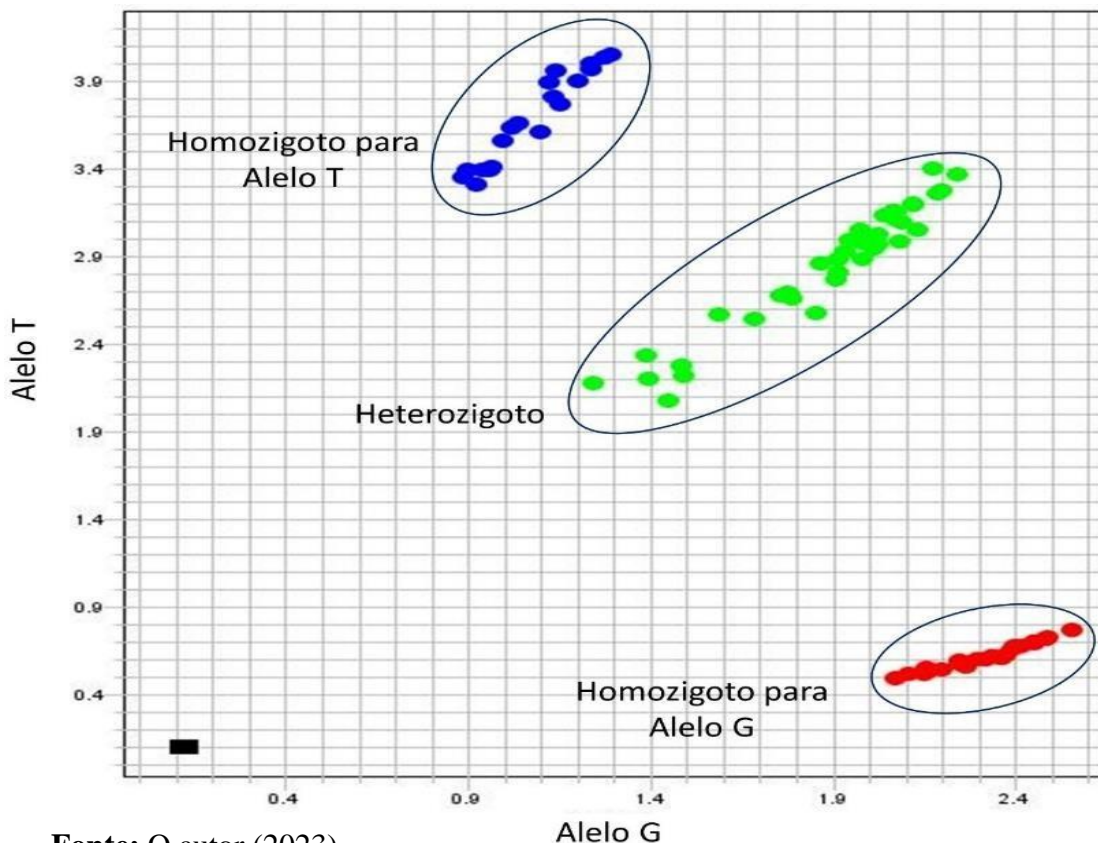
Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual ou média e desvio-padrão.

7.2 Relação dos genótipos do polimorfismo

O polimorfismo estudado apresentou os seguintes genótipos: 11 (27,5%) eram homocigotos (G/G), 9 (22,5%) eram homocigotos (T/T) e (50%) eram heterocigotos. Na tabela

3, é possível observar que não há nenhuma associação do alelo G com as características clínico-epidemiológico avaliadas ($p>0,05$).

Figura 10: gráfico de discriminação alélica



Fonte: O autor (2023)

Tabela 3: Análise de associação de características clínico-epidemiológico com alelo G.

	Genótipo				P-Valor*	OR	IC 95%	
	G/T + G/G		T/T					
Resposta a QT neoadjuvante								
Parcial	21	72,4%	4	50,0%	0,394	2,625	0,526	13,099
Completa	8	27,6%	4	50,0%		1		
Resposta linfonodo pós QT								
Negativo	14	46,7%	7	87,5%	0,053	8,00	0,874	73,27
Positivo	16	53,3%	1	12,5%		1		
Receptores hormonais								
Negativo	7	22,6%	3	33,3%	0,665	1,714	0,339	8,676
Positivo	24	77,4%	6	66,7%		1		
HER2								
Negativo	23	79,3%	7	77,8%	1,000	0,913	0,149	5,580
Positivo	6	20,7%	2	22,2%		1		
Ki67 (32,9±23,2)								
<15%	9	31,0%	1	11,1%	0,396	0,278	0,030	2,565

>15%	20	69,0%	8	88,9%	1
------	----	-------	---	-------	---

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.
*p<0,05, teste exato de Fisher.

Por outro lado, o alelo T apresentou associação significativa com o status linfonodal axilar, bem como com a resposta a QTNA (p<0,05), sem apresentar associação com os marcadores imunohistoquímico avaliados.

Tabela 4: Análise de associação de características clínico-epidemiológico com o alelo T.

	Genótipo				P-Valor*	OR	IC 95%	
	G/T + T/T		G/G					
Resposta a QT neoadjuvante								
Parcial	15	55,6%	10	100,0%	0,015	0,059	0,003	1,11
Completa	12	44,4%	0	0,0%		1		
Resposta linfonodo pós QT								
Negativo	19	70,4%	2	18,2%	0,005	0,094	0,016	0,533
Positivo	8	29,6%	9	81,8%		1		
Receptores hormonais								
Negativo	9	31,0%	1	9,1%	0,233	0,222	0,025	2,01
Positivo	20	69,0%	10	90,9%		1		
HER2								
Negativo	20	74,1%	10	90,9%	0,395	3,50	0,377	32,5
Positivo	7	25,9%	1	9,1%		1		
Ki67 (32,9±23,2)								
<15%	6	22,2%	4	36,4%	0,432	2,00	0,434	9,21
>15%	21	77,8%	7	63,6%		1		

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.
*p<0,05, teste exato de Fisher.

Quando comparados os genótipos homozigotos, foi possível observar uma correlação relevante entre o homozigoto TT com a QTNA, visto a associação estatística significativa deste genótipo com a resposta linfonodal e redução do tamanho do tumor (Tabela 5).

Tabela 5: Análise de associação de características clínico-epidemiológico com os genótipos homozigoto TT/GG.

	Genótipo		P-Valor*	OR	IC 95%	
	G/G	T/T				
Resposta a QT neoadjuvante						

Parcial	10	100,0%	4	50,0%	0,023	0,048	0,002	1,08
Completa	0	0,0%	4	50,0%		1		
Resposta linfonodo pós QT								
Negativo	2	18,2%	7	87,5%	0,005	31,50	2,35	422,3
Positivo	9	81,8%	1	12,5%		1		
Receptores hormonais								
Negativo	1	9,1%	3	33,3%	0,286	0,500	0,419	59,66
Positivo	10	90,9%	6	66,7%		1		
HER2								
Negativo	10	90,9%	7	77,8%	0,566	0,350	0,026	4,66
Positivo	1	9,1%	2	22,2%		1		
Ki67 (32,9±23,2)								
<15%	4	36,4%	1	11,1%	0,319	0,219	0,020	2,45
>15%	7	63,6%	8	88,9%		1		

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

*p<0,05, teste exato de Fisher.

8 DISCUSSÃO

8.1 Características Epidemiológicas

A partir dos nossos resultados, observou-se que a maioria das pacientes com Câncer de Mama (CM) estavam com 50 anos ou mais, não apresentavam histórico familiar de câncer e não eram tabagistas.

Resultados semelhantes aos nossos, foram relatados no estudo de Matos, Rabelo e Peixoto (2021), ao analisar o perfil epidemiológico do câncer de mama no Brasil, cerca de 27% (n=53.990) da amostra estavam com 50 a 59 anos. Outro estudo, realizado em Juiz de Fora – MG, também colabora com nossos achados, pois cerca de 56% (n=123), da amostra tinham \geq 50 anos, e soma também a ideia que quase 83% (n=184) da amostra não tinha histórico familiar de câncer (MELILLO *et al.*, 2020).

Isso colabora com o panorama geral do Brasil, onde o INCA aponta que a maior taxa de incidência acomete mulheres a partir dos 50 anos. Um estudo realizado no Ceará aponta que a maior faixa-etária de óbito por câncer de mama no estado é de 50-59 anos com cerca de 43,5% dos óbitos dos anos de 2005 a 2015, devido a falta do rastreamento pela mamografia e o diagnóstico tardio (BARROS *et al.*, 2020).

Estudo realizado no Ceará, na cidade de Juazeiro do Norte, aponta que a faixa etária de 50 a 59 anos apresentava-se em segundo lugar com o número total de câncer (n=264), a faixa etária mais representativa em números de casos, foi de 40 a 49 anos com 360 casos (DA SILVA BATISTA; DE FRANÇA; DE ALENCAR ARRAIS, 2021).

Um estudo conduzido nos Estados Unidos, em parceria com o Instituto Nacional do Câncer demonstrou que a maior faixa etária de pacientes diagnosticadas com CM de 1995 a 2019 foi de 60 a 69 anos com 29,54% (n=100.230) para carcinoma ductal in situ e invasivo, a segunda maior faixa-etária foi de 50 a 59 anos com 23,23% (n=78.810) (GIAQUINTO *et al.*, 2022).

Sobre o histórico familiar de câncer a Sociedade Brasileira de Mastologia (SBM) estabelece que mulheres diagnosticadas com CM de forma hereditária são apenas cerca de 5 a 10%. E os principais genes que acometem o câncer hereditário são o BRCA1 e BRCA2, e que consequentemente não estão muito presentes na população brasileira.

Somando a isso a SBM descreve que a maior incidência por CM acomete mulheres com \geq 50 anos devido a fatores hormonais, como a menopausa tardia, e a menarca antes dos 12 anos, proporcionando maiores níveis de estrogênio circulante. Em nossos achados, 59% dos

casos tiveram sua menarca após os 12 anos (n=23), e 44,4% (n=16) das pacientes com menopausa após os 45 anos.

O panorama mundial parece seguir as evidências aqui encontradas, uma vez que no estudo de Xu, Sandler e Taylor (2020) apenas 6% (94) e 20,1% (215) das pacientes da amostra apresentavam menarca precoce e menopausa tardia respectivamente. Outro estudo de coorte conduzido na China analisou 300.824 mulheres e seus riscos de CM. Após o diagnóstico de CM apenas 5,6% (n=21.034) das pacientes tiveram a menarca precoce (<12 anos) (HAN *et al.*, 2021).

Resultados semelhantes foram encontrados por Santos e colaboradores (2019), no estado do Paraná, onde 86,8% (n=152) das pacientes entrevistadas não tiveram menarca precoce e apenas 14% das pacientes relataram a menopausa tardia

Em nossos resultados é possível analisar que a grande maioria das pacientes estava no estágio III (60%), o que pode acarretar um pior prognóstico e qualidade de vida. Dados diferentes foram encontrados no estudo de Fernandes e Linhares (2021) que demonstrou das 42 pacientes analisadas a maioria com 47% (n=20) estavam no estágio II, e que apenas 13 pacientes estavam no estágio III.

O estudo de Melillo e colaboradores (2020) abordam que as pacientes se encontravam nos estadiamentos mais precoces com T1 (43%), T2 (39%), já no estudo de Matos, Rabelo e Peixoto (2021), apenas 19% dos casos estavam no estágio T3 (n=38.352) e T2 apresentava a maioria das pacientes com mais de 40 mil casos.

Sobre os subtipos moleculares encontrados no estudo e os receptores hormonais, cerca de 75% da amostra (n=30) apresentavam tumores com receptores hormonais positivos (progesterona e/ou estrogênio), em relação ao receptor her2, cerca de 78,9% (n=30) das pacientes não apresentaram expressão do receptor.

Outros achados colaboram com os nossos dados encontrados, no estudo Bezerra *et al.* (2020) ao avaliar os receptores hormonais, quase 85% (n=27) das pacientes apresentaram resultados positivos para receptores hormonais, mas em relação ao receptor her2 cerca de 62,5 (n=20) pacientes apresentaram status positivo. No estudo de Simões e colaboradores (2022) ao analisar 80 mulheres com CM em uso de doxorrubicina em um hospital em Belo Horizonte (Brasil), 83,75% das pacientes (n=67) apresentavam receptores hormonais positivos, sendo 39 pacientes para estrogênio e 28 para progesterona, em relação ao her2 apenas 43% (n=34) das pacientes apresentaram expressão do receptor.

Achados semelhantes também foram encontrados por Silva *et al.* (2020) ao avaliar 203 mulheres com CM, sendo separadas em dois grupos, o grupo A continha 75 pacientes com idade < 50 e o grupo B havia 128 pacientes com ≥ 50 anos, tanto o grupo A como o grupo B, apresentaram taxas de receptores hormonais representativas. No grupo A 55 (73,3%) e 49 (65,3%), enquanto no grupo B 98 (76,6%) e 83 (64,8%) das pacientes continham receptores positivos para RE e RP respectivamente. Em relação ao her2 apenas 21(10,34%) mulheres de ambos os grupos apresentavam status positivo.

8.2 Polimorfismo do gene IGF1R (rs2016347) e quimioterapia neoadjuvante

O nosso estudo é o primeiro a ser conduzido na América do Sul, em um hospital de referência em tratamento do CM a avaliar o polimorfismo do gene IGF1R (rs2016347) sobre a resposta neoadjuvante na QT e também foi um grande motivador para a realização do trabalho. Em nossos achados colaboramos com a ideia de que a presença do alelo T da variante rs2016347 pode melhorar o prognóstico de pacientes com CM submetidas ao tratamento de QTNA.

Esse resultado pode somar a outros já encontrados para melhor descrever o papel do alelo T do SNP rs2016347, em pacientes com CM, e que no futuro possam justificar o desenvolvimento de terapias anti IGF1R para aqueles pacientes portadores do alelo G, que cursam com pior prognóstico.

O SNP rs2016347 é uma variante do gene IGF1R que está relacionado com um menor risco de CM ER+ em pacientes com HDP (Distúrbios Hipertensivos da gravidez) (POWELL *et al.*, 2017). O mecanismo mais aceito para essa resposta seria que, das inúmeras modificações que acontecem durante a gestação e a paciente com hipertensão, ocorre uma diminuição e alterações nos hormônios e nos níveis de IGF1R.

O estudo de Powell e colaboradores (2017) verificou que as mulheres com histórico de pré-eclâmpsia, com idade do primeiro parto <30 anos, com o genótipo TT do rs2016347, obteve um efeito biológico protetivo, em que diminuiram quase 74% o risco de CM quando comparadas ao genótipo GG (IC 0,02 – 0,49 $p < 0,004$).

Em outro estudo de coorte retrospectivo, cerca de 204.155 mulheres foram avaliadas quanto ao genótipo rs2016347 com HDP, as mulheres com no mínimo um alelo T (Timina) tiveram uma taxa de risco menor para CM com IC de 95% (0,37 – 0,92, $p < 0,02$) em comparação com o genótipo GG (POWELL *et al.*, 2020).

O alelo T desenvolve um papel na diminuição gradual nos níveis de expressão de IGF1R no mRNA da mama, além de promover o aumento da involução do tecido mamário (POWELL *et al.*, 2019).

Um outro estudo que acompanhou quase 90 mil mulheres de 1989 a 2015, revelou que, pacientes com histórico de pré-eclâmpsia e com pelo menos um alelo T, tinham 33% menos chances de desenvolver CM, sendo um fator protetor (RR 0,67, com IC 95% 0,46-0,97, $p < 0,04$) (POWELL *et al.*, 2023).

O principal achado do nosso estudo, foi poder estabelecer que o alelo T pode modular um melhor prognóstico para as pacientes que expressam esse alelo, uma vez que as portadoras desse alelo apresentaram um desfecho significativo em relação à um melhor status linfonodal axilar ($p < 0,05$), bem como a redução do tamanho do tumor ($p < 0,023$) em comparação com o alelo G.

O estudo de Groot *et al.* (2016) corrobora com os nossos achados, uma vez que analisou 250 mulheres com CM Her2 negativo, em estágio II e III, em QTNA, recebendo tamoxifeno, e o alelo T rs2016347 foi associado a uma melhor resposta patológica após a QT em comparação com o alelo G ($p < 0,032$).

Somando a isso, o alelo G da variante rs2016347 em pacientes com CM ER+, tratados com tamoxifeno é associado a um pior prognóstico, apresentando um pior risco de progressão tumoral precoce (RR 2,01, $p < 0,004$) bem como risco de óbito (RR 1,84, $p < 0,023$) em comparação com o alelo T/T ou G/T (WINDER *et al.*, 2014). Outro estudo apoia o resultado anterior, pois pacientes com alelo G do IGF1 rs2016347 não se beneficiaram com o tratamento com tamoxifeno (BABYSHKINA *et al.*, 2020).

Devido ao número relativamente baixo de mulheres com amostras coletadas, durante o momento que o estudo foi iniciado até o término, nossa capacidade de observar significância estatística sobre outras características tanto epidemiológicas como genéticas foi um fator limitante. Além disso, não foi possível a separação de grupos segundo a classificação subtipo molecular do câncer de mama, para correlacionar com a presença do alelo T, pois assim, seria possível estabelecer se o IGF-1R poderia melhorar o prognóstico de pacientes segundo a classificação do subtipo molecular.

Somando a isso, houve associação estatisticamente significativa em relação aos marcadores imunohistoquímicos apresentados. Sendo necessário a realização de mais estudos com tamanho amostral maior para avaliar essas outras características aqui não encontradas.

9 CONCLUSÃO

O polimorfismo rs2016347 com o alelo T, do gene IGF1R, demonstrou uma melhor resposta à Quimioterapia Neoadjuvante (QTNA) com redução do tamanho do tumor e um downstaging axilar das pacientes com Câncer de Mama (CM), o que pode ser associado a um melhor prognóstico de pacientes submetidas ao tratamento de QTNA.

No estudo atual não houve associação estatisticamente significativa em relação aos marcadores imunohistoquímicos apresentados.

REFERÊNCIAS

- AKA, E. *et al.* Management of breast cancer in Abidjan: A single center experience. **Gynecologie, Obstetrique, Fertilité & Senologie**, v. 49, n. 9, p. 684-690, 2021.
- ALONSO, S.; DOW, L. E. Engineering chromosome rearrangements in cancer. **Disease Models & Mechanisms**, v. 14, n. 9, p. dmm049078, 2021.
- ALSAIF, A. A. *et al.* Association of multiple drug resistance-1 gene polymorphism with multiple drug resistance in breast cancer patients from an ethnic Saudi Arabian population. **Cancer epidemiology**, v. 37, n. 5, p. 762-766, 2013.
- APOSTOLOU, Paraskevi; FOSTIRA, Florentia. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.
- ARTEAGA, C. L. Progress in breast cancer: overview. **Clinical Cancer Research**, v. 19, n. 23, p. 6353-6359, 2013.
- ASHARIATI, A. Polymorphism C3435T of the MDR-1 gene predict response to preoperative chemotherapy in locally advanced breast cancer with Her2/neu expression. **Acta Med Indones**, v. 40, n. 4, p. 187-191, 2008.
- BABYSHKINA, N. *et al.* 94P Coexpression of PI3K/Akt signaling components and breast stem cells markers: Potential contributions in resistance to tamoxifen treatment. **Annals of Oncology**, v. 31, p. S278, 2020.
- BARROS, L. *et al.* Mortalidade por Câncer de Mama: uma Análise da Tendência no Ceará, Nordeste e Brasil de 2005 a 2015. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 66, n. 1, p. e-14740, 2020.
- BARZAMAN, K. *et al.* Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. **International immunopharmacology**, v. 84, p. 106535, 2020.
- BAYLIN, S. B.; JONES, P. A. Epigenetic determinants of cancer. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 8, n. 9, p. a019505, 2016.
- BEZERRA, D. A. *et al.* Association of the ABCB1 C3435T gene polymorphism (SNPs) with the response to neoadjuvant chemotherapy in women with breast cancer in northeastern Brazil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 2, p. 305-310, 2020.
- BOŠKAILO, E. *et al.* Resilience and quality of life of patients with breast cancer. **Psychiatria Danubina**, v. 33, n. suppl 4, p. 572-579, 2021.
- BRADLEY, J. A.; MENDENHALL, N. P. Novel radiotherapy techniques for breast cancer. **Annual Review of Medicine**, v. 69, p. 277-288, 2018.
- BREAST CANCER ASSOCIATION CONSORTIUM. Breast cancer risk genes— association analysis in more than 113,000 women. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 5, p. 428-439, 2021.
- BROWN, G. Oncogenes, Proto-oncogenes, and lineage restriction of cancer stem cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, p. 9667, 2021.

BUITRAGO, F.; UEMURA, G.; SENA, M. C. F. Fatores prognósticos em câncer de mama. **Comun. ciênc. saúde**, p. 69-81, 2011.

BUTTI, R. *et al.* Breast cancer stem cells: Biology and therapeutic implications. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 107, p. 38- 52, 2019.

CAMPOS-VERDES, L. M. *et al.* Review of polymorphism of the calcium- sensing receptor gene and breast cancer risk. **Cancer Investigation**, v. 36, n. 2, p. 1-7, 2018.

CARDOSO, A. P. F.; UDOH, K.T.; STATES, J. Christopher. Arsenic- induced changes in miRNA expression in cancer and other diseases. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 409, p. 115306, 2020.

CASTRO, A. M. S.; GUERRA-JÚNIOR, G. GH/IGF-1 and cancer: what's new in this association. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, p. 833-842, 2005.

CHAGAY, N. B.; MKRTUMYAN, A. M. Estrogen metabolism, lifetime methylation disorders, and breast cancer. **Problemy Endokrinologii**, v. 65, n. 3, p. 161- 173, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOLOGIA (SBM). Câncer de mama: Vamos conversar, Prevenção, **Acolhimento e Cuidado**. Goiânia: UFG, 2021.

COSTA SOUZA, A.; RIBEIRO, S. Sleep deprivation and gene expression. **Sleep, neuronal plasticity and brain function**, p. 65-90, 2015.

CURA, Y. *et al.* Genetic polymorphisms on the effectiveness or safety of breast cancer treatment: Clinical relevance and future perspectives. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 788, p. 108391, 2021.

DA COSTA, M. A. D. L.; CHAGAS, S. R. P. Quimioterapia neoadjuvante no câncer de mama operável: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 59, n. 2, p. 261-269, 2013.

DA SILVA BATISTA, M.R.; DE FRANÇA, T.A.; DE ALENCAR ARRAIS, J. F. Indicadores epidemiológicos do câncer de mama em mulheres no município de juazeiro do norte-ceará. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 9, n. 1, p. 905-914, 2021.

DE ALMEIDA, L. C. *et al.* DNA damaging agents and DNA repair: From carcinogenesis to cancer therapy. **Cancer Genetics**, v. 252, p. 6-24, 2021.

DE GROOT, S. *et al.* Dutch Breast Cancer Research Group Insulin-like growth factor 1 receptor expression and IGF1R 3129G> T polymorphism are associated with response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients: results from the NEOZOTAC trial (BOOG 2010-01). **Breast Cancer Res**, v. 18, n. 3, 2016.

DENKERT, C. *et al.* Clinical and analytical validation of Ki-67 in 9069 patients from IBCSG VIII+ IX, BIG1-98 and GeparTrio trial: systematic modulation of interobserver variance in a comprehensive in silico ring trial. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 176, n. 3, p. 557-568, 2019.

DIORIO, C. *et al.* Insulin-like growth factor-I, IGF-binding protein-3, and mammographic

breast density. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 14, n. 5, p. 1065-1073, 2005.

DUGGAN, C. *et al.* Associations of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein-3 with mortality in women with breast cancer. **International journal of cancer**, v. 132, n. 5, p. 1191-1200, 2013.

ECKSTEIN, N. *et al.* Hyperactivation of the insulin-like growth factor receptor I signaling pathway is an essential event for cisplatin resistance of ovarian cancer cells. **Cancer research**, v. 69, n. 7, p. 2996-3003, 2009.

ELDESOKY, A. R. *et al.* Internal and external validation of an ESTRO delineation guideline-dependent automated segmentation tool for loco-regional radiation therapy of early breast cancer. **Radiotherapy and Oncology**, v. 121, n. 3, p. 424-430, 2016.

ELLEGREN, H.; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, n. 7, p. 422-433, 2016.

FAGAN, D. H. *et al.* Acquired Resistance to Tamoxifen Is Associated with Loss of the Type I Insulin-like Growth Factor Receptor: Implications for Breast Cancer Treatment Tamoxifen-Resistant Cells Lose Expression of IGF1R. **Cancer research**, v. 72, n. 13, p. 3372-3380, 2012.

FERNANDES E. M. A.; LINHARES, J. J. Papel dos níveis séricos de vitamina d e da síndrome metabólica e o risco de câncer de mama. **Arq. Catarin. Med.** v. 50, n. 2, p. 257-270, 2021.

FISUSI, F. A.; AKALA, E. O. Drug combinations in breast cancer therapy. **Pharmaceutical nanotechnology**, v. 7, n. 1, p. 3-23, 2019.

FOEKENS, J. A. *et al.* Insulin-like growth factor-1 receptors and insulin-like growth factor-1-like activity in human primary breast cancer. **Cancer**, v. 63, n. 11, p. 2139-2147, 1989.

FREUDENHEIM, J. L. Alcohol's effects on breast cancer in women. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 2, 2020.

FRY, E. A.; INOUE, K. c-MYB and DMTF1 in cancer. **Cancer investigation**, v. 37, n. 1, p. 46-65, 2019.

GARCIA-MARTINEZ, L. *et al.* Epigenetic mechanisms in breast cancer therapy and resistance. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2021.

GIAQUINTO, A. N. *et al.* Breast cancer statistics, 2022. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 72, n. 6, p. 524-541, 2022

HAMELERS, I. H. L.; STEENBERGH, P. H. Interactions between estrogen and insulin-like growth factor signaling pathways in human breast tumor cells. **Endocrine-related cancer**, v. 10, n. 2, p. 331-345, 2003.

HAN, Y. *et al.* Development and external validation of a breast cancer absolute risk prediction model in Chinese population. **Breast Cancer Research**, v. 23, n. 1, p. 1-13, 2021.

ZAMARIN, D. *et al.* Localized oncolytic virotherapy overcomes systemic tumor resistance to immune checkpoint blockade immunotherapy. **Science translational medicine**, v. 6, n. 226, p. 226ra32-226ra32, 2014.

HARTL, M. ; BISTER, K. Myc analysis in cancer and evolution. In: **The Myc Gene: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer US, 2021. p. 87-117.

HARVEY, W. H. *et al.* Interferon-alpha-2b downregulation of oncogenes H-ras, c-raf-2, c-kit, c-myc, c-myb and c-fos in ESKOL, a hairy cell leukemic line, results in temporal perturbation of signal transduction cascade. **Leukemia research**, v. 18, n. 8, p. 577-585, 1994.

HE, Y. *et al.* Relationships between SNPs and prognosis of breast cancer and pathogenic mechanism. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 7, n. 9, p. e871, 2019.

HEIL, J. *et al.* Eliminating the breast cancer surgery paradigm after neoadjuvant systemic therapy: current evidence and future challenges. **Annals of Oncology**, v. 31, n. 1, p. 61-71, 2020.

HESKAMP, S. *et al.* Upregulation of IGF-1R expression during neoadjuvant therapy predicts poor outcome in breast cancer patients. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0117745, 2015.

HOUSSAMI, N.; TURNER, R. M.; MORROW, M. Meta-analysis of pre-operative magnetic resonance imaging (MRI) and surgical treatment for breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 165, n. 2, p. 273-283, 2017.

HU, C. *et al.* Anti-metastasis activity of curcumin against breast cancer via the inhibition of stem cell-like properties and EMT. **Phytomedicine**, v. 58, p. 152740, 2019.

INCA, Estimativa 2020: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em:<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//...> Acesso em: 12 maio 2021.

INCA, Estimativa 2023: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em:<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//...> Acesso em: 25 nov 2022

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Cancer today. Lyon: invasion. **PloS one**, 9(7), e103534.

JIANG, W. *et al.* Asperolide A prevents bone metastatic breast cancer via the PI3K/AKT/mTOR/c-Fos/NFATc1 signaling pathway. **Cancer medicine**, v. 9, n. 21, p. 8173-8185, 2020.

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine reviews**, v. 16, n. 1, p. 3-34, 1995.

KAUFMAN, C. S. Increasing role of oncoplastic surgery for breast cancer. **Current Oncology Reports**, v. 21, n. 12, p. 1-10, 2019.

KLECKNER, A. S. *et al.* Nutritional Status Predicts Fatty Acid Uptake from Fish and Soybean Oil Supplements for Treatment of Cancer-Related Fatigue: Results from a Phase II Nationwide Study. **Nutrients**, v. 14, n. 1, p. 184, 2021.

- KURODA, Y. *et al.* Suppressive effect of membrane-permeable peptides derived from autophosphorylation sites of the IGF-1 receptor on breast cancer cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 765, p. 24-33, 2015.
- LI, Y. *et al.* Prognostic significance of molecular subtype, metastatic site and primary tumor surgery for survival in primary metastatic breast cancer: A SEER-based study. **Medicine**, v. 100, n. 27, 2021.
- LI, Y. *et al.* Prolactin and endocrine therapy resistance in breast cancer: The next potential hope for breast cancer treatment. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, n. 22, p. 10327-10348, 2021.
- LÓPEZ-JORNET, P. *et al.* Salivary biomarkers in breast cancer: a cross-sectional study. **Supportive Care in Cancer**, v. 29, p. 889-896, 2021.
- MALLER, O. *et al.* Tumour-associated macrophages drive stromal cell-dependent collagen crosslinking and stiffening to promote breast cancer aggression. **Nature materials**, v. 20, n. 4, p. 548-559, 2021.
- MANUAL DE ONCOLOGIA CLÍNICA DO BRASIL. TNM 8ª Edição – Câncer de Mama. Principais mudanças e implicações na prática clínica. São Paulo, 09 de mar. de 2018. Disponível em: <https://mocbrasil.com/blog/videteca/vol09num01/>. Acesso em: 19 de jan. de 2023.
- MAOR, S. *et al.* Estrogen receptor regulates insulin-like growth factor-I receptor gene expression in breast tumor cells: involvement of transcription factor Sp1. **Journal of endocrinology**, v. 191, n. 3, p. 605-612, 2006.
- MATOS, S. E. M.; RABELO, M. R. G.; PEIXOTO, M. C. Análise epidemiológica do câncer de mama no Brasil: 2015 a 2020. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 13320-13330, 2021.
- MELILLO, B. C. D. *et al.* Perfil epidemiológico das pacientes com câncer de mama atendidas em Juiz de Fora–Minas Gerais (MG), **Brasil. Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 80575-80592, 2020.
- MODI, S. *et al.* Trastuzumab deruxtecan (T-DXd) versus treatment of physician's choice (TPC) in patients (pts) with HER2-low unresectable and/or metastatic breast cancer (mBC): Results of DESTINY-Breast04, a randomized, phase 3 study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 22, n. 40, 2022.
- NAHTA, R. *et al.* Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells. **Cancer research**, v. 65, n. 23, p. 11118-11128, 2005.
- NARAYANAN, R.; COSS, C. C.; DALTON, J. T. Development of selective androgen receptor modulators (SARMs). **Molecular and cellular endocrinology**, v. 465, p. 134-142, 2018.
- PAPA, V. *et al.* Insulin-like growth factor-I receptors are overexpressed and predict a low risk in human breast cancer. **Cancer research**, v. 53, n. 16, p. 3736-3740, 1993.

PARK, J. H.; PYUN, W. Y.; PARK, H. W. Cancer metabolism: phenotype, signaling and therapeutic targets. **Cells**, v. 9, n. 10, p. 2308, 2020.

PATTERSON, A. D. *et al.* Molecular regulation of carcinogenesis: Friend and foe. **Toxicological Sciences**, v. 165, n. 2, p. 277-283, 2018.

PONDÉ, N. F.; ZARDAVAS, D.; PICCART, M. Progress in adjuvant systemic therapy for breast cancer. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 16, n. 1, p. 27-44, 2019.

POULIOT, M. C. *et al.* The role of methylation in breast cancer susceptibility and treatment. **Anticancer research**, v. 35, n. 9, p. 4569-4574, 2015.

POWELL, M. *et al.* A common IGF1R gene variant predicts later life breast cancer risk in women with preeclampsia. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 197, p. 1- 11, 2023.

POWELL, M. J. *et al.* Cancer and cardiovascular risk in women with hypertensive disorders of pregnancy carrying a common IGF1R variant. *Mayo Clinic Proceedings*. **Elsevier**, p. 2684-2696, 2020.

POWELL, M. J. *et al.* Pregnancy hypertension and a commonly inherited IGF1R variant (rs2016347) reduce breast cancer risk by enhancing mammary gland involution. **Journal of oncology**, v. 2019, 2019.

POWELL, M. J. *et al.* A variante funcional do IGF1R prevê o risco de câncer de mama em mulheres com pré-eclâmpsia no California Teachers Study. **Cancer Causes & Control**, v. 28, n. 10, pág. 1027-1032, 2017.

RASOULI, S. ; ZARGHAMI, N. Synergistic growth inhibitory effects of chrysin and metformin combination on breast cancer cells through hTERT and cyclin D1 suppression. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 19, n. 4, p. 977, 2018.

RICH, T. A. *et al.* Hereditary breast cancer syndromes and genetic testing. **Journal of surgical oncology**, v. 111, n. 1, p. 66-80, 2015.

ROBERTS, P. J. Human genome project. In: **Annales chirurgiae et gynaecologiae**. p. 3, 2001.

ROSSI, L.; MAZZARA, C.; PAGANI, O. Diagnosis and treatment of breast cancer in young women. **Current treatment options in oncology**, v. 20, n. 12, p. 1-14, 2019.

SAMAVAT, H.; KURZER, M. S. Estrogen metabolism and breast cancer. **Cancer letters**, v. 356, n. 2, p. 231-243, 2015.

SARKISSYAN, S. *et al.* IGF-1 regulates Cyr61 induced breast cancer cell proliferation and invasion. **PLoS one**, v. 9, n. 7, p. e103534, 2014.

SHIEN, T.; IWATA, H. Adjuvant and neoadjuvant therapy for breast cancer. **Japanese journal of clinical oncology**, v. 50, n. 3, p. 225-229, 2020.

SHRESTHA, B. *et al.* Gold nanoparticles mediated drug-gene combinational therapy for breast cancer treatment. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 8109, 2020.

SIMÕES, R. *et al.* Níveis de troponina I segundo a classificação molecular do tumor em mulheres com câncer de mama sob uso de doxorrubicina. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 2, p. 7458-7467, 2022.

SUBRAMANI, R. *et al.* Role of growth hormone in breast cancer. **Endocrinology**, v. 158, n. 6, p. 1543-1555, 2017.

SUN, J. *et al.* Germline Mutations in Cancer Susceptibility Genes in a Large Series of Unselected Breast Cancer Patients Mutations in Cancer Susceptibility Genes in Breast Cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 23, n. 20, p. 6113-6119, 2017.

SUN, L.; ZHANG, H.; GAO, P. Metabolic reprogramming and epigenetic modifications on the path to cancer. **Protein & Cell**, p. 1-43, 2021.

SUNG, H. *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TAKATA, T. *et al.* Calculating and estimating second cancer risk from breast radiotherapy using Monte Carlo code with internal body scatter for each out-of-field organ. **Journal of Applied Clinical Medical Physics**, v. 21, n. 12, p. 62-73, 2020.

TRABERT, B. *et al.* Progesterone and breast cancer. **Endocrine reviews**, v. 41, n. 2, p. 320-344, 2020.

WINDER, T. *et al.* Insulin-like growth factor receptor polymorphism defines clinical outcome in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with tamoxifen. **The pharmacogenomics journal**, v. 14, n. 1, p. 28-34, 2014.

WANG, H. *et al.* Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer of consensus and controversial perspectives. *Zhonghua Zhong liu za zhi* [**Chinese Journal of Oncology**], v. 43, n. 4, p. 504-509, 2021.

WANG, Y. A. *et al.* Germline breast cancer susceptibility gene mutations and breast cancer outcomes. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 1-13, 2018.

WARSOW, G. *et al.* Differential network analysis applied to preoperative breast cancer chemotherapy response. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e81784, 2013.

WHITE, E.; MEHNERT, J. M.; CHAN, C. S. Autophagy, metabolism, and cancer. **Clinical cancer research**, v. 21, n. 22, p. 5037-5046, 2015.

WILCOCK, P.; WEBSTER, R. M. The breast cancer drug market. **Nat Rev Drug Discov**, v. 20, n. 5, p. 339-340, 2021.

WINDER, T. *et al.* Insulin-like growth factor receptor polymorphism defines clinical outcome in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with tamoxifen. **The pharmacogenomics journal**, v. 14, n. 1, p. 28-34, 2014.

XU, Z.; SANDLER, D. P.; TAYLOR, J. A. Blood DNA methylation and breast cancer: a prospective case-cohort analysis in the sister study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 112, n. 1, p. 87-94, 2020.

YADAV, S. *et al.* Germline pathogenic variants in cancer predisposition genes among women with invasive lobular carcinoma of the breast. **Journal of Clinical Oncology**, v. 39, n. 35, p. 3918-3926, 2021.

YERUSHALMI, R. *et al.* Insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) in breast cancer subtypes. **Breast cancer research and treatment**, v. 132, p. 131-142, 2012.

ZACKSENHAUS, E. *et al.* Transcription factors in breast cancer—lessons from recent genomic analyses and therapeutic implications. **Advances in protein chemistry and structural biology**, v. 107, p. 223-273, 2017.

ZHANG, X. *et al.* Multiple signaling pathways are activated during insulin-like growth factor-I (IGF-I) stimulated breast cancer cell migration. **Breast cancer research and treatment**, v. 93, p. 159-168, 2005.

ZHU, C. *et al.* PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 signaling pathways are involved in IGF-1-induced VEGF-C upregulation in breast cancer. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 137, p. 1587-1594, 2011.

Terapêutica instituída previamente a colheita do material:

Quimioterapia +

-) Quadrantectomia/esvaziamento axilar + RT
-) Mastectomia/esvaziamento axilar + RT
-) Outros

Resposta a terapêutica

-) Crescimento tumoral
-) Sem resposta
-) Até 50%
-) Resposta parcial 50 a 99%
-) Resposta clínica completa 100% clinicamente
-) Resposta patológica completa 100% na patologia () Metástase
-) Recidiva

OBSERVAÇÃO: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o pós-graduando Guarany Mont'Alverne de Arruda que pode ser encontrado na Universidade Federal do Ceará, Campus Sobral, Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde (telefone 85-98840-9192). Endereço do responsável pela pesquisa: Nome: Guarany Mont'Alverne de Arruda. Instituição: Universidade Federal do Ceará – Campus Sobral. Endereço: Rua Comandante Maurocélvio Rocha Ponte, 100 – Derby Telefones para contato: (88) 992177151 guaranyarruda@ig.com.br

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada para participar de uma pesquisa denominada “ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM

CÂNCER DE MAMA” sob a orientação e a coordenação do médico ginecologista Dr. Guarany Mont’alverne de Arruda, que tem como objetivo principal avaliar a presença de uma alteração genética que poderá determinar melhor resposta ou não ao tratamento de quimioterapia em pacientes com câncer de mama.

A finalidade deste folheto é esclarecer aberta e claramente todos os procedimentos envolvidos neste estudo, antes de sua decisão quanto à participação. O estudo será realizado na Santa Casa de Misericórdia ou no Centro de Especialidades Médicas, na cidade de Sobral, Ceará. Esse trabalho visa: identificar uma alteração genética que possa influenciar na resposta ao tratamento de quimioterapia no câncer de mama.

Os exames a serem realizados durante a pesquisa (ultrassom, mamografia e o teste genético) não lhe trarão nenhum custo financeiro, bem como não serão prejudiciais a sua saúde.

Questões que dizem respeito a você, que será submetida ao estudo, serão anotadas, sendo importante entender que você não é obrigada a participar. Em caso de não participação ou de desistência em qualquer época, você não precisa fornecer explicações e pode ficar certa de que continuará sendo assistida e tratada da melhor forma possível. Fique à vontade para esclarecer as suas dúvidas com o pesquisador, mesmo que a pergunta pareça simples. Você poderá conversar sobre o estudo com amigos, familiares e com os profissionais da área da saúde, caso seja de seu interesse.

Os seus dados pessoais serão abordados de maneira estritamente confidencial, ficando a sua identificação inteiramente resguardada.

A qualquer época você poderá ter acesso às informações e às conclusões do projeto em questão. Não há benefício direto para você, pois se trata de estudo experimental testando a hipótese de que uma alteração genética no gene do receptor do fator de crescimento insulina símile poderá ocasionar melhora da resposta à quimioterapia neo-adjuvante. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício. Não haverá riscos diretos para você, o risco que pode acontecer refere-se a

perda de sigilo dos seus dados envolvidos na pesquisa. Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos participantes nela envolvidos.

Caso você decida participar, leia e assine o formulário e uma cópia será mantida com você para a sua informação.

TÍTULO DO ESTUDO: “ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA”.

Investigador: Guarany Mont’Alverne de Arruda

- 1 - Li e entendi o informativo sobre o estudo acima e tive a oportunidade de questionar e tirar as dúvidas que me apareceram.
- 2 - Entendi que os dados dos meus registros médicos podem ser examinados pelos responsáveis da pesquisa ou pelas autoridades regulatórias, quanto à importância da minha participação no estudo.
- 3 - Entendo que a minha participação é voluntária e que tenho a liberdade de desistência a qualquer tempo sem explicar as razões e sem que a minha assistência médica ou os meus direitos legais sejam afetados.
- 4 - Concedo permissão para acessar os meus registros e dados pessoais.
- 5 - Receberei uma cópia do presente formulário de consentimento para manter sob minha guarda.
- 6 - Concordo em participar do Projeto de Pesquisa acima descrito.

Sobral, Ceará / / .

Nome completo da paciente:

Endereço:

Telefone: ()

Assinatura:

Nome da testemunha:

Assinatura da testemunha:

Assinatura do investigador:

Pesquisador responsável (assinatura, nome e CPF)

Guarany Mont'alverne de Arruda

ANEXO C -TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO

TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO

Eu, **Dr. Francisco Sávio Alves Arcanjo**, Diretor Técnico da Santa Casa de Misericórdia de Sobral - SCMS, fiel depositário dos prontuários e da base de dados da instituição Hospital do Coração de Sobral situada em Sobral - CE, declaro que **GUARANY MONT'ALVERNE DE ARRUDA**, Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará- UFC - *Campus* de Sobral, estão autorizados a realizar nesta instituição o projeto de pesquisa: **“ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA”**, sob a responsabilidade dos pesquisadores **JOSÉ JUVENAL LINHARES** e **JOSÉ JACKSON DO NASCIMENTO COSTA**, cujo objetivo geral é **“Avaliar a associação entre o polimorfismo IGF1R no receptor do fator de crescimento semelhante a insulina com a resposta à quimioterapia neoadjuvante em mulheres com câncer de mama”**.

Ressalto que estou ciente de que serão garantidos os direitos, dentre outros assegurados pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde:

- Garantia da confidencialidade, do anonimato e da não utilização das informações em prejuízo dos outros.
- Que não haverá riscos para o sujeito de pesquisa.
- Emprego dos dados somente para fins previstos nesta pesquisa.
- Retorno dos benefícios obtidos através deste estudo para as pessoas e a comunidade onde o mesmo foi realizado.

Informo-lhe ainda, que a pesquisa somente será iniciada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP localizado no Centro Universitário UNINTA, no município de Sobral – CE, na rua Cel. Antônio Rodrigues Magalhães, 359, Bairro Dom Expedito Lopes, para garantir a todos os envolvidos os referenciais básicos da bioética, isto é, autonomia, não maleficência, benevolência e justiça.

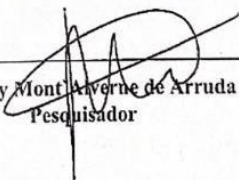
Sobral - CE, 03 de dezembro de 2021.


 Dr. Francisco Sávio Alves Arcanjo
 Diretor Técnico
Francisco Sávio Alves Arcanjo
 Diretor Técnico da SCMS

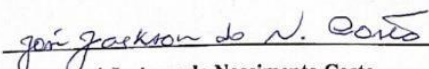
ANEXO D- TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS**TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS**

Eu, GUARANY MONT'ALVERNE DE ARRUDA, abaixo assinado, pesquisador envolvido no projeto de título ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE IGF1R (rs2016347) COM A RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA, me comprometo a manter a confidencialidade sobre os dados coletados nos arquivos do SETOR DE ONCOLOGIA, da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, bem como a privacidade de seus conteúdos, como preconizam os Documentos Internacionais e a Resolução no 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde. Informo que os dados a serem coletados dizem respeito aos prontuários DE PACIENTES EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO PARA CÂNCER DE MAMA.

Sobral - CE, 07 de dezembro de 2021.



Guarany Mont'Alverne de Arruda
Pesquisador



José Jackson do Nascimento Costa
Coorientador