



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Douglas Fellipe Peters

MicroRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo: uma revisão narrativa da
literatura

Florianópolis
2025

Douglas Fellipe Peters

MicroRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo: uma revisão narrativa da literatura

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de graduação em Farmácia do Centro Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientador(a): Prof^a Dr^a Tânia Beatriz Creczynski Pasa

Florianópolis

2025

Peters, Douglas Fellipe

microRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo: uma
revisão narrativa da literatura / Douglas Fellipe Peters ;
orientador, Tânia Beatriz Creczynski Pasa, 2025.

71 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Farmácia. 3. microRNAs. 4. Câncer de
mama. 5. Câncer de mama triplo negativo. I. Creczynski
Pasa, Tânia Beatriz . II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.



Documento assinado digitalmente
DOUGLAS FELLIPE PETERS
Data: 07/07/2025 18:12:32-0300
CPF: ***.441.909-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Douglas FelliPe Peters

MicroRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo: uma revisão narrativa da literatura

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutico e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Local Florianópolis, 03 de julho de 2025.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora



Documento assinado digitalmente
TANIA BEATRIZ CRECZYNSKI PASA
Data: 07/07/2025 14:43:46-0300
CPF: ***.695.540-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof^a Tânia Beatriz Creczynski Pasa, Dr^a
Orientador(a)



Documento assinado digitalmente
Lilian Sibelle Campos Bernardes
Data: 07/07/2025 16:00:21-0300
CPF: ***.487.066-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof^a Lilian Sibelle Campos Bernardes, Dr^a
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
Ariane Zamoner Pacheco de Souza
Data: 07/07/2025 14:52:31-0300
CPF: ***.637.269-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof^a Ariane Zamoner Pacheco de Souza, Dr^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2025.

Dedico este trabalho à minha querida mãe, Andréia Teikoski, que travou uma incansável batalha contra o câncer. Sua jornada me impulsionou a dedicar meus esforços à busca de respostas que avancem o conhecimento nesta área. Cada palavra, cada descoberta aqui, é um tributo à sua luta e um passo adiante na esperança de um futuro com mais saúde para todos. Que esta pesquisa seja um elo com sua memória e contribua, de alguma forma, para que outras histórias tenham um final diferente. Este trabalho é para você.

AGRADECIMENTOS

A realização deste Trabalho de Conclusão de Curso representa não apenas o término de uma etapa acadêmica, mas também a concretização de um esforço conjunto e o apoio de diversas pessoas. A elas, expresso minha sincera gratidão.

Meus sinceros agradecimentos à minha orientadora, Prof^a Dr^a Tânia Beatriz Creczynski Pasa, por acreditar em mim, pela expertise, paciência, confiança e pela inestimável orientação e conhecimentos transmitidos.

À equipe do Grupo de Estudos de Interações entre Micro e Macromoléculas (GEIMM), em especial a Mariana Martins Vernaschi e Karen Cristina Cordeiro dos Santos, pela disponibilidade, pelo suporte técnico e pela valiosa ajuda na pesquisa. O ambiente de colaboração do laboratório foi fundamental.

Agradeço imensamente à banca examinadora, composta pela Prof^a Dr^a Lilian Sibelle Campos Bernardes e pela Prof^a Dr^a Ariane Zamoner Pacheco de Souza, por aceitarem o convite para avaliar este trabalho e pelas valiosas contribuições e sugestões que certamente enriqueceram a pesquisa.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por proporcionar a formação acadêmica e toda a infraestrutura necessária para a realização deste projeto.

Aos professores do curso de Graduação em Farmácia, por compartilharem seus conhecimentos e paixão pela ciência ao longo de toda a jornada acadêmica, contribuindo decisivamente para a minha formação.

À minha família, pelo amor incondicional, apoio inabalável, compreensão das minhas ausências e pelo constante incentivo. Vocês são meu maior alicerce.

Aos meus amigos e colegas de curso, pela parceria, pelo apoio mútuo, pelos conselhos e pelos momentos de partilha que tornaram a caminhada mais leve e gratificante.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para a minha formação.

"I don't want to die until I see cancer cured."
(James D. Watson)

RESUMO

O câncer de mama é uma neoplasia heterogênea com grande importância epidemiológica devido à alta incidência e mortalidade. É representada por diversos subtipos e complexidade, o que impacta na resposta às terapias, no desenvolvimento de metástases e no prognóstico. Este cenário é consequência, principalmente da desinformação, das dificuldades de acesso às formas atuais de diagnósticos e pelo conhecimento insípido sobre biomarcadores moleculares menos invasivos, de forma a resultar em diagnósticos tardios. Dada tal heterogeneidade, este estudo teve como objetivo caracterizar os subtipos de câncer de mama em nível molecular, com foco no subtipo triplo negativo, um subtipo agressivo. O câncer de mama triplo negativo caracteriza-se pela elevada malignidade, rápida progressão, alta recorrência, invasão agressiva e metástases, além de apresentar prognóstico ruim, alta taxa de mortalidade e resistência às terapias endócrina e direcionada convencionais. Nesse contexto, os miRNAs representam-se como uma alternativa promissora, consistem em uma classe de moléculas de RNA não-codificantes e biologicamente ativas responsáveis pela regulação da expressão pós-transcricional de genes envolvidos na maquinaria do ciclo celular que participam de diversos processos fisiológicos e patológicos, além de mecanismos compensatórios. Este trabalho buscou, por meio de uma revisão narrativa da literatura abordar: I) o processo de síntese e mecanismo de ação dos miRNAs, com foco no miRNA-144-3p e a respectiva relação com o câncer de mama triplo negativo; II) investigar a relação entre o miRNA-144-3p e o câncer de mama triplo negativo e; III) avaliar a aplicabilidade miRNA como biomarcador e possível alvo terapêutico. Embora exista certa escassez de literatura sobre o tema, os trabalhos abordados durante a pesquisa relataram resultados promissores. Os resultados observados indicam que o miRNA-144-3p tem função de supressor tumoral no tecido mamário e que suprime diversas vias relacionadas ao desenvolvimento de câncer de mama triplo negativo. Foi possível concluir que a baixa expressão do miRNA-144-3p no tecido tumoral mamário está relacionada ao desenvolvimento de um subtipo de câncer menos diferenciado e mais agressivo. Concluindo, embora tenha-se encontrado resultados promissores, para a aplicabilidade do miRNA-144-3p como biomarcador e possível alvo terapêutico, ainda são necessários estudos adicionais sobre o tema devido a considerável inconsistência e irreprodutibilidade observados, que podem ser atribuídos ao uso de diferentes plataformas de medição, à estratégia de normalização empregada e a outros fatores pré-analíticos como raça, idade, sexo dos pacientes, tipo de amostra, manuseio e método de processamento.

Palavras-chave: Câncer de mama; Câncer de mama triplo negativo; microRNAs, miRNA-144-3p.

ABSTRACT

Breast cancer is a heterogeneous neoplasm with significant epidemiological importance due to its high incidence and mortality. It is represented by diverse subtypes and complexity within tumors, which impacts treatment response, metastasis, and prognosis. This scenario is primarily caused by misinformation, difficulties accessing current diagnostic methods, and a lack of knowledge about less invasive molecular biomarkers, resulting in late diagnosis. Given this heterogeneity, this study aimed to characterize breast cancer subtypes at a molecular level, focusing on the triple-negative subtype, an aggressive form characterized by high malignancy, rapid progression, high recurrence rates, aggressive invasion, and metastasis. It also presents a poor prognosis, high mortality rate, and resistance to conventional endocrine and targeted therapies due to the lack of specific therapeutic targets. In this context, miRNAs represent a promising alternative. They are non-coding, biologically active RNA molecules responsible for the post-transcriptional regulation of genes involved in the cell cycle, participate in various physiological and pathological processes, and compensatory mechanisms. Through a narrative literature review, this work addressed the process of: I) miRNA synthesis and mechanism of action, focusing on miRNA-144-3p and its relationship with breast cancer, specifically the triple-negative subtype; II) It aimed to investigate the relationship between miRNA-144-3p and triple-negative breast cancer and; III) evaluate its applicability as a biomarker and potential therapeutic target. Although there is a certain scarcity of literature on the topic, the studies reviewed during the research demonstrated promising results. The observed results indicate that miRNA-144-3p has a tumor suppressive function in breast tissue and suppresses various pathways related to the development of triple-negative breast cancer. It was concluded that the low expression of miRNA-144-3p in breast cancer tissue is associated with the development of a less differentiated and more aggressive breast cancer subtype. However, despite promising results, further studies are needed for its applicability as a biomarker and potential therapeutic target due to considerable inconsistency and irreproducibility observed, which can be attributed to the use of different measurement platforms, the normalization strategy employed, and other pre-analytical factors such as race, age, sex, sample type, handling, and processing method.

Keywords: Breast cancer; Triple-negative breast cancer; microRNAs; miRNA-144-3p.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tumorigênese.....	23
Figura 2 - Crescimento e progressão câncer de mama.....	31
Figura 3 - Biogênese e mecanismo de ação de um típico miRNA.	40
Figura 4 - Mecanismo de ação RISC.....	42
Figura 5 - Biogênese de miRNA, função no citoplasma e transporte núcleo-citoplasma.....	45
Figura 6 - Modelo que descreve como o miR-144 atua como um regulador chave do eixo Itch-p63-Ago2/Dicer.....	52
Figura 7 - Representação esquemática da utilidade de miRNAs circulantes como biomarcadores para diagnóstico/prognóstico de câncer de mama em resposta à terapia neoadjuvante.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGO	Argonauta
ALK	Cinase do linfoma anaplásico (<i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>)
BLIA	<i>Basal-like</i> Imuno Ativado
BLIS	<i>Basal-like</i> Imuno Suprimido
BRCA	Gene de Suscetibilidade ao Câncer de mama 1 (<i>Breast Cancer Susceptibility Gene</i>)
CA 15-3	Antígeno de Câncer 15-3 (<i>Cancer Antigen 15-3</i>)
CAF	Fibroblasto Associado ao Câncer (<i>Cancer-Associated Fibroblast</i>)
CCR4–NOT	Complexo CCR4–NOT (<i>CCR4–NOT Complex</i>)
CD	Cluster de Diferenciação
CEP55	Proteína de Ligação de Centrômero 55 (<i>Centrosomal Protein 55</i>)
CHEK2	Proteína Cinase 2 de Ponto de Checagem (<i>Checkpoint Kinase 2</i>)
CK	Citoqueratina (<i>Cytokeratin</i>)
CYP	Citocromo P450 (<i>Cytochrome P450</i>)
Dcp	Proteína de Decapagem (<i>Decapping Protein</i>)
DGCR8	Região Crítica de DiGeorge 8 (<i>DiGeorge Critical Region 8</i>)
EGF	Fator de Crescimento Epidérmico (<i>Epidermal Growth Factor</i>)
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>)
ER	Receptor de Estrogênio (<i>Estrogen Receptor</i>)
HER2	Receptor 2 do Fator de Crescimento Epidérmico Humano (<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>)
hnRNPs	Proteínas Ribonucleoproteínas Nucleares Heterogêneas (<i>Heterogeneous Nuclear Ribonucleoproteins</i>)
Hsp	Proteína de Choque Térmico (<i>Heat Shock Protein</i>)
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (<i>Insulin-like Growth Factor 1</i>)
IGF1R	Receptor do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (<i>Insulin-like Growth Factor 1 Receptor</i>)
IM	Subtipo Imunomodulatório
Itch	E3 Ubiquitina Ligase Itch (<i>Itch E3 Ubiquitin Ligase</i>)

Ki67	Antígeno Ki-67
LRA	Subtipo Luminal Andrógeno (<i>Luminal Androgen</i>)
MES	Subtipo Mesenquimal
miRNAs	MicroRNAs
miRISC	Complexo Silenciador Induzido por microRNA (<i>microRNA-induced Silencing Complex</i>)
mRNA	RNA Mensageiro (Messenger RNA)
MSL	Subtipo Mesenquimal-like (<i>Mesenchymal-like</i>)
NGF	Fator de Crescimento Nervoso (<i>Nerve Growth Factor</i>)
NQO2	NADH Quinona Oxidorredutase 2 (<i>NADH Quinone Oxidoreductase 2</i>)
NPM1	Nucleofosmina 1 (<i>Nucleophosmin 1</i>)
nSMase2	Esfingomielinase Neutra 2 (<i>Neutral Sphingomyelinase 2</i>)
p63	Proteína p63
p73	Proteína p73
PALB2	Parceria e Localizador de BRCA2 (<i>Partner and Localizer of BRCA2</i>)
PCR digital	Reação em Cadeia da Polimerase Digital (<i>Digital Polymerase Chain Reaction</i>)
PTGS	Silenciamento Gênico Pós-transcricional (<i>Post-Transcriptional Gene Silencing</i>)
RBP	Proteínas de Ligação de RNA (<i>RNA Binding Proteins</i>)
RT-PCR	PCR com Transcrição Reversa (<i>Reverse Transcription PCR</i>)
SOX2	Fator de Transcrição SOX2 (<i>SRY-Box Transcription Factor 2</i>)
STAT	Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição (<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>)
TGS	Silenciamento Gênico Transcricional (<i>Transcriptional Gene Silencing</i>)
TGA	Alvos de Silenciamento Gênico (<i>Transcriptional Gene Activin</i>)
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta (<i>Transforming Growth Factor Beta</i>)
TAM	Macrófagos Associados ao Tumor (<i>Tumor-Associated Macrophages</i>)
TNRC6A	Proteína 6A de Centrossomo e Corpo P (<i>Centrosome and P-Body Protein 6A</i>)
TP53	Proteína Tumoral p53 (<i>Tumor Protein p53</i>)
TP63	Proteína Tumoral p63 (<i>Tumor Protein p63</i>)

TRBP	Proteína de Ligação de Regiões TAR (<i>TAR-Binding Protein</i>)
UTR	Região não traduzida (<i>Untranslated Region</i>)
VEGFR2	Receptor 2 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>)
ZEB	Caixa E-binding Homeobox (<i>Zinc Finger E-box Binding Homeobox</i>)
Corpos P	Corpos de Processamento

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
2	JUSTIFICATIVA.....	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	OBJETIVO GERAL.....	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4	METODOLOGIA	22
5	REVISÃO NARRATIVA.....	23
5.1	CÂNCER CONCEITOS GERAIS	23
5.1.1	Origem do câncer.....	23
5.1.2	Microambiente tumoral	27
5.1.3	Exossomas	28
5.2	CÂNCER DE MAMA.....	29
5.2.1	Aspectos gerais	29
5.2.2	Diagnóstico câncer de mama.....	32
5.2.3	Classificação imunohistoquímica dos subtipos de câncer de mama	34
5.2.4	Subtipos moleculares câncer de mama triplo negativo	35
5.2.5	Biomarcadores basais.....	37
5.3	MICRORNAS	38
5.3.1	Biogênese dos microRNAs.....	39
5.3.2	Mecanismo de ação	40
5.3.2.1	<i>Mecanismo de ação citoplasmático.....</i>	<i>40</i>
5.3.2.2	<i>Mecanismo de ação nuclear.....</i>	<i>41</i>
5.4	MICRORNAS E CÂNCER.....	46
5.4.1	MicroRNAs como promotores tumorais	47
5.4.2	MicroRNAs como supressores tumorais.....	47
5.5	MICRORNA-144-3p E CÂNCER DE MAMA	47
5.5.1	MicroRNA-144-3p e CEP55	48
5.5.2	MicroRNA-144-3p e ZEB1/2.....	49
5.5.3	"Cluster" microRNA-144/451 e p63	50
5.5.4	MicroRNA-144-3p e SOX2	52
5.6	MICRORNAS COMO BIOMARCADORES.....	54
5.7	TRATAMENTO BASEADO EM MICRORNAS.....	58

CONCLUSÃO..... 61

1 INTRODUÇÃO

Alguns dos primeiros registros históricos sobre o câncer remontam a 3000 a.C., encontrados no Papiro de Edwin Smith, que descrevia o câncer de mama (SENGA; GROSE, 2023). Ao longo da história, a busca por decifrar a origem e o mecanismo de transformação de uma célula normal em maligna deu origem a várias teorias. No século XVI, ao demonstrar que depósitos de sais de arsênio e enxofre no sangue de trabalhadores de minas estavam associados ao câncer, Paracelso foi o primeiro a identificar uma correlação entre o câncer e o ambiente, e abriu caminho para estudos posteriores de outros cientistas (SENGA; GROSE, 2023).

Em meados do século XX, James Watson e Francis Crick fizeram a sua famosa descoberta da estrutura de dupla hélice do DNA, o material básico dos genes. Foi descoberto que o DNA era a base do código genético e a partir disso, os cientistas foram capazes de entender como os genes funcionam e como eles poderiam ser danificados por mutações, o que ajudou a entender os mecanismos da carcinogênese (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014).

A partir das descobertas de que o câncer podia ser causado por fatores endógenos e exógenos, e à medida que a compreensão do DNA e dos genes desenvolveu, descobriu-se que era o dano ao DNA que frequentemente levava ao desenvolvimento de câncer. Tornou-se possível identificar o local exato do dano em um gene específico (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014). A partir do dano ao DNA que gera uma mutação, as células que crescem a partir das células mutantes levam à formação de grupos de células clones anormais. Com o tempo, os clones mutantes evoluem para clones malignos, e o tumor progride com adicionais danos genéticos e mutações. A grande diferença entre os tecidos saudáveis e os tumorais é que células saudáveis com DNA danificado morrem, enquanto células tumorais com DNA danificado não morrem (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014).

Atualmente, entende-se o câncer como um termo utilizado para designar um grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células e pela capacidade de invadir tecidos vizinhos e espalhar-se para outras partes do corpo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024). As células tumorais então, subvertem os mecanismos normais de controle do ciclo celular, que regulam a divisão e o crescimento, que resulta em proliferação de forma desordenada (MISHRA; YADAV; RANI, 2016). A perda da homeostase da proliferação celular, que dá origem ao tumor, está associada às alterações genéticas em regiões específicas do DNA conhecidas

como proto-oncogenes, e genes supressores de tumor, responsáveis pela regulação do ciclo celular, que quando mutados, transformam as células saudáveis em células tumorais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024). A proliferação desordenada de células alteradas, como resultado da desregulação de genes envolvidos na maquinaria do ciclo celular e na apoptose, leva à formação de tumores (MISHRA; YADAV; RANI, 2016).

Entre os diferentes tipos de câncer, no ano de 2022, o câncer de mama foi o tipo de câncer mais comum entre as mulheres em 157 dos 185 países, causando aproximadamente 670 000 mortes em todo o mundo no mesmo ano (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024). No Brasil, é o tipo que causa mais mortes entre as mulheres. No ano de 2021, foram registradas 18.139 mortes decorrentes do câncer de mama (INCA, 2022). As dificuldades principais que contribuem para este cenário negativo consistem na desinformação, dificuldades de acesso às formas atuais de diagnósticos e na falta de conhecimento sobre biomarcadores moleculares, cujas obtenções sejam menos invasivas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024).

O diagnóstico convencional de câncer de mama é realizado através de exames de imagem como mamografia, tomossíntese, ressonância magnética e ultrassonografia mamária, que avaliam o tamanho e localização do tumor (JAFARI et al., 2018) (MCDONALD et al., 2016). Exames invasivos como biópsia por aspiração por agulha ou cirúrgica consistem na estratégia definitiva para o diagnóstico (AKRAM et al., 2017). A partir da biópsia da amostra é possível realizar uma série de ensaios imuno histoquímicos para determinar a presença de receptores de estrogênio e progesterona, bem como do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), que estão diretamente relacionados a agressividade do câncer e a resposta ao tratamento (MCDONALD et al., 2016).

A heterogeneidade do câncer de mama proporciona uma subdivisão importante, de acordo com a expressão fenotípica das células malignas e comportamento do tumor. Nesse sentido os subtipos de câncer de mama são classificados com base na expressão dos receptores de estrogênio, progesterona e HER2, além da Ki67, uma proteína expressa em células que estão em processo de divisão e indica a taxa de proliferação celular. A depender das características fenotípicas encontradas por imunohistoquímica, o câncer de mama é classificado em quatro subtipos principais: luminal A, luminal B, HER2-positivo e triplo negativo ou *basal-like*. Essa classificação é determinante para definir o tratamento mais adequado para cada paciente (HARBECK; GNANT, 2017).

Os subtipos moleculares de câncer de mama diferem nas respectivas características e abordagens terapêuticas. O Luminal A é marcado pela presença de receptores de estrogênio e progesterona, sendo HER2 negativo e com Ki-67 idealmente abaixo de 14%, apresentando um prognóstico favorável e excelente resposta à terapia endócrina. Já o Luminal B também expressa receptores de estrogênio e progesterona, mas possui um Ki-67 maior ou igual a 20% e pode ou não ser HER2 positivo. O subtipo HER2-positivo não apresenta receptores de estrogênio nem de progesterona, mas tem HER2 super expresso. Por fim, o *basal-like*, frequentemente chamado de câncer de mama triplo negativo, não expressa receptores de estrogênio e progesterona ou HER2. É importante notar que câncer de mama triplo negativo e câncer de mama *basal-like* sobrepõem-se significativamente, pois câncer de mama *basal-like* é uma classificação baseada em um conjunto maior de genes, enquanto câncer de mama triplo negativo foca apenas na ausência dos três receptores específicos. O câncer de mama triplo negativo é um subtipo agressivo, com alta chance de recorrência e metástase, e, devido à falta de alvos terapêuticos específicos, as opções de tratamento restringem-se à remoção cirúrgica e quimioterapia, já que terapias endócrinas ou biológicas se mostram ineficazes (HARBECK; GNANT, 2017) (MCDONALD et al., 2016) (KATSURA et al., 2022).

Nesse sentido, a ausência de biomarcadores precoces e alvos terapêuticos específicos é uma limitação enfrentada no câncer de mama triplo negativo. Por estas razões, além do aperfeiçoamento contínuo dos biomarcadores já conhecidos, a identificação de novos preditores precoces é um dos principais desafios da pesquisa nessa área (KELLER et al., 2014).

Nesse contexto, os microRNAs (miRNAs) vem sendo considerados como uma possível alternativa, pois consistem em uma classe de moléculas biologicamente ativas que participam de diversos processos fisiológicos patológicos, além de mecanismos compensatórios. Dessa forma, eles podem não apenas possibilitar a detecção precoce de doenças relacionadas à expressão de genes, mas também complementar os marcadores moleculares e clínicos disponíveis. Assim podem fornecer informações adicionais e auxiliar em diagnósticos diferenciais orientados por biomarcadores, além de eventualmente serem alvos para tratamentos de câncer (KELLER et al., 2014), pois moléculas miméticas são facilmente sintetizadas para servir como o insumo farmacêutico.

Os miRNAs são pequenas moléculas de RNA não codificantes com 18-25 nucleotídeos em tamanho com capacidade de regular a expressão de múltiplos genes

envolvidos em processos celulares chave, como crescimento, apoptose, diferenciação e metástase. Essas moléculas desempenham um papel importante na tumorigênese ao regular a expressão de oncogenes e genes supressores de tumor em nível pós-transcricional, podendo atuar tanto como promotores de oncogenes quanto como supressores tumorais (WU et al., 2024). A desregulação da expressão de miRNAs é uma característica comum em tumores malignos e pode contribuir para o desenvolvimento e progressão tumoral, através de alterações no transcriptoma e no proteoma de proteínas responsáveis pelas características fundamentais do câncer (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010) (MENON et al., 2022). A desregulação dos miRNAs no câncer pode ser provocada por alterações epigenéticas, falhas na biogênese dos miRNAs, mutações ou polimorfismos nos genes que os codificam, além de anormalidades cromossômicas (MENON et al., 2022). Esses eventos podem ocorrer de forma isolada ou simultânea, afetando diretamente a expressão dos miRNAs (MENON et al., 2022).

Entre os diferentes miRNAs que podem estar envolvidos com diferentes neoplasias, o microRNA-144-3p (miRNA-144-3p) demonstra exercer efeitos supressores de tumor e pode afetar as propriedades de diferentes linhagens celulares malignas através de múltiplos mecanismos, incluindo de câncer de mama (KOOSHKAKI et al., 2020). Diversos estudos indicam que a expressão do miRNA-144-3p está frequentemente diminuída em tecidos de certos cânceres de mama em comparação com tecidos adjacentes saudáveis (YIN et al., 2018) (PAN et al., 2016). Essa diminuição na expressão está correlacionada com características clínico patológicas mais agressivas, como grau de diferenciação celular, estágios clínicos mais avançados e metástases para linfonodos (PAN et al., 2016). A baixa expressão de miRNA-144-3p em tecido tumoral de mama também está associada a uma menor taxa de sobrevivência dos pacientes (YIN et al., 2018). Nesses estudos, o miRNA-144-3p demonstra atuar como um supressor tumoral, inibindo a expressão de genes como ZEB1/2, fatores transcricionais que promovem a transição epitelial-mesenquimal (TEM), um processo envolvido na invasão e metástase do câncer (PAN et al., 2016), CEP55, essencial para a citocinese, na separação física do citoplasma das células durante a fase final da mitose (YIN et al., 2018), SOX2 um fator de transcrição envolvido na manutenção da pluripotência das células-tronco (GREAVES; MALEY, 2012), e regulador da via supressora tumoral Itch-p63-Ago2/Dicer (WANG et al., 2022). Neste caso, há indícios de que o miRNA-144-3p atuaria como supressor de tumor, cuja baixa expressão resultaria em maior expressão

de oncogenes, sugerindo o miRNA-144-3p como possível alvo terapêutico do câncer de mama.

Entretanto, há controvérsias, estudos que fazem a dosagem de miRNA-144-3p em sangue, soro e plasma diferem de estudos que fazem estas análises em tecidos. Esses estudos em sangue, soro e plasma, sugerem que a expressão do miRNA-144-3p é elevada na circulação de pacientes com câncer de mama triplo negativo antes da quimioterapia, mas retorna às concentrações normais após o tratamento, assemelhando-se àquelas encontrados em mulheres saudáveis (FU et al., 2023). Neste caso, a expressão miRNA-144-3p aponta para um possível uso como biomarcador e no monitoramento da resposta à terapia.

Essa revisão busca esclarecer a importância do miRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo, verificar as controvérsias e avaliar a aplicabilidade do miRNA como biomarcador e possível alvo terapêutico

2 JUSTIFICATIVA

O câncer de mama triplo negativo apresenta elevada malignidade, rápida progressão, alta recorrência, invasão agressiva e metástases. Também apresenta prognóstico ruim, alta taxa de mortalidade e resistência às terapias endócrina e direcionada convencionais por falta de alvos terapêuticos (KATSURA et al., 2022). A expressão de miRNA no tecido tumoral ou no sangue de pacientes com câncer de mama triplo negativo difere significativamente da de pessoas saudáveis, sugerindo que os miRNAs podem estar intimamente relacionados à formação e progressão do câncer de mama triplo negativo (FU et al., 2023). Nesse sentido, o miRNA-144-3p tem demonstrado estar significativamente desregulado no subtipo agressivo câncer de mama triplo negativo. Esta descoberta sugere que o miRNA-144-3p pode ser um potencial biomarcador para a detecção do câncer de mama triplo negativo. Embora o mecanismo não esteja completamente elucidado, há indícios de correlação dos níveis de expressão do miRNA-144-3p nos tecidos tumorais de mama no sangue periférico e o grau de malignidade do tipo de câncer (KAHRAMAN et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a função do miRNA-144-3p no câncer de mama e avaliar a respectiva aplicabilidade como biomarcador e alvo terapêutico para o subtipo triplo negativo

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Considerando o desenvolvimento do trabalho e o objetivo geral apresentado, destacam-se os seguintes objetivos específicos:

- Caracterizar os miRNAs, abordando o processo de síntese e interação do miRNA-144-3p na regulação da expressão gênica pós-transcricional;
- Caracterizar os subtipos de câncer de mama, com foco no câncer de mama triplo negativo, e descrever a sua correlação com a expressão do miRNA-144-3p;
- Avaliar a aplicabilidade do miRNA-144-3p como biomarcador e possível alvo terapêutico;
- Esclarecer a importância do miRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo e verificar as controvérsias do tema.

4 METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão narrativa da literatura sobre o miRNA 144-3p no câncer de mama triplo negativo, em que foram selecionados artigos que contém as palavras-chave: *“ER-Negative PR-Negative HER2-Negative Breast Cancer”*, *“ER Negative PR Negative HER2 Negative Breast Cancer”*, *“ER-Negative PR-Negative HER2-Negative Breast Neoplasms”*, *“Negative PR Negative HER2 Negative Breast Neoplasms”*, *“Triple Negative Breast Cancer”*, *“Triple-Negative Breast Cancer”*, *“Breast Cancers Triple-Negative”*, *“Breast Cancer Triple-Negative”*, *“Triple-Negative Breast Cancers”*, *“Triple-Negative Breast Neoplasm”*, *“Breast Neoplasms Triple-Negative”*, *“Breast Neoplasm Triple-Negative”*, *“Triple Negative Breast Neoplasm”*, *“Triple-Negative Breast Neoplasms”*, *“hsa-mir-144”*, *“miR-144”*, *“microRNA-144”* e que tratam da relação entre o microRNA e o subtipo câncer de mama triplo negativo. Foram selecionados artigos a partir de ano de 2004 até o ano presente, com preferência por data de publicação e relevância. Para a busca de artigos foram utilizadas as bases de dados PubMed/MEDLINE e Google Scholar. As palavras-chave foram organizadas por meio dos operadores booleanos “AND” e “OR” para otimizar a busca dos artigos. Para introdução e contextualização do tema foram utilizados artigos com relevância acadêmica que tratam da carcinogênese.

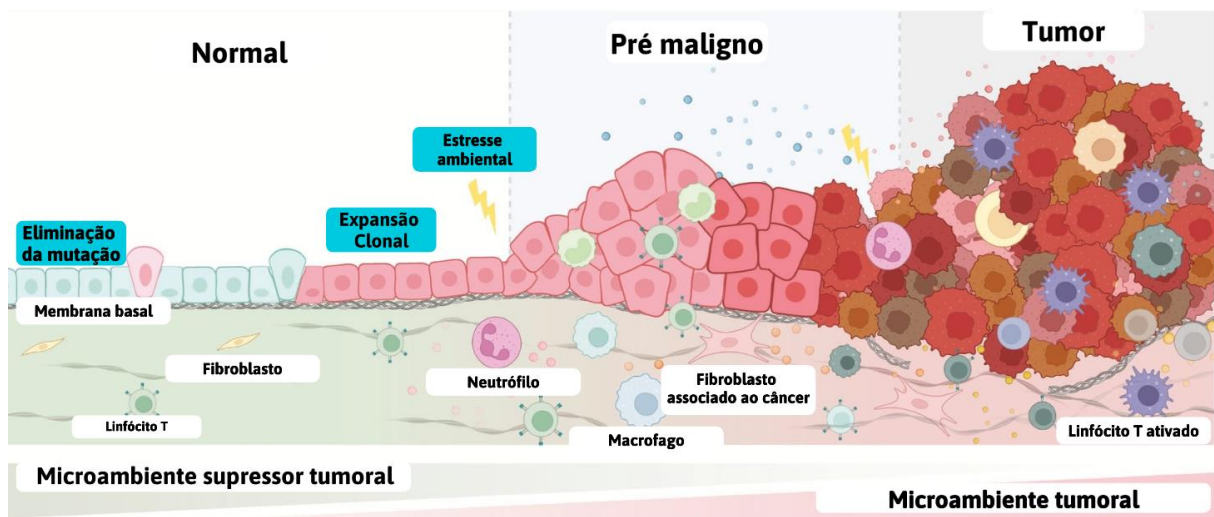
5 REVISÃO NARRATIVA

5.1 CÂNCER CONCEITOS GERAIS

5.1.1 Origem do câncer

Atualmente, entende-se o câncer como termo para designar um grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células malignas que ultrapassam seus limites habituais, invadem tecidos adjacentes e podem espalhar-se para outras partes do corpo através de um processo chamado de metástase, que é uma das principais causas de mortes por câncer. Neoplasia e tumor maligno são outros nomes comuns para o câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2025). O câncer é uma doença causada pelo acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas que transformam células normais em células malignas. As células malignas subvertem vias moleculares e mecanismos de controle do ciclo celular incluindo autorrenovação, diferenciação de células-tronco, regulação da divisão e proliferação existentes, e contornam os mecanismos de proteção que previnem a formação de tumores de maneira a gerar proliferação celular excessiva desordenada e o desenvolvimento de tumores (MISHRA; YADAV; RANI, 2016) (SENGA; GROSE, 2023) (ZHANG et al., 2024). As células malignas, no microambiente tumoral, podem promover também a desdiferenciação celular e induzir a formação de células-tronco tumorais, aumentando o risco de reincidência dos tumores ou até de desenvolver um tumor diferente do primário (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015; HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021).

Figura 1 - Tumorigênese



Em tecidos saudáveis, mutações somáticas surgem esporadicamente e podem ser eliminadas por mecanismos de reparo do DNA. Os clones mutantes podem ainda manter-se em estase até serem expostos a um estímulo adicional. A partir desse estágio, a proliferação torna-se descontrolada, e a transformação maligna é iniciada, progredindo de lesões pré-malignas para tumores. Durante esse processo, as células transformadas acumulam gradualmente mutações genéticas adicionais e alterações epigenéticas, exibindo características gradualmente mais malignas, como evasão imune, ruptura estrutural e invasão. Além disso, o microambiente dessas células também evolui de supressor de tumor para um ambiente de suporte à malignidade. Fonte: Adaptado de ZHANG et al., 2024

A transformação das células normais em células malignas está associada à instabilidade genômica e alterações genéticas e epigenéticas em regiões do DNA conhecidas como proto-oncogenes, e genes supressores de tumor, reguladores de processos biológicos relacionados ao ciclo celular (WANG et al., 2019) (ZHANG et al., 2024).

Proto-oncogenes estão relacionados a fatores de crescimento, transmissores de sinais celulares, fatores de transcrição nuclear e diferenciação de células-tronco. Dependendo das necessidades metabólicas da célula um proto-oncogene pode ser expresso em níveis bastante baixos, no entanto, em determinados momentos, quando ativa, a expressão do gene pode ser fortemente induzida. Em uma célula normal saudável, a expressão do proto-oncogene é controlada por seu promotor transcricional (MISHRA; YADAV; RANI, 2016) (KONTOMANOLIS et al., 2020) (ZHANG et al., 2024).

Alterações genéticas nessas regiões do DNA, como: I) translocação cromossômica de um proto-oncogene de uma região do DNA onde não pode ser transcrita para uma região onde pode ser transcrito; II) amplificação gênica, quando há incorporação de múltiplas cópias de um oncogene no genoma; III) incorporação de um gene promotor de transcrição próximo ao proto-oncogene, resultando em aumento da expressão e mutações pontuais em bases de DNA por outra que resultem na substituição de um aminoácido e; IV) alteração na proteína codificada em oncoproteína que afetam o respectivo nível de expressão ou a conformação da estrutura da proteína codificada; podem surgir em células malignas como oncogenes ativados (KONTOMANOLIS et al., 2020)(ZHANG et al., 2024).

Além dos oncogenes, existem também os genes supressores de tumor, que impedem a célula de tornar-se maligna. Genes supressores de tumor estão relacionados com a manutenção da integridade do DNA, inibição de divisão celular, indução de apoptose e supressão de metástases (WANG et al., 2019). Silenciamento

epigenético, degradação proteossômica por ubiquitinação, localização celular anormal e regulação transcricional estão envolvidas na inativação dos genes supressores de tumor (KONTOMANOLIS et al., 2020) (WANG et al., 2019) (ZHANG et al., 2024).

Não há um consenso se as células malignas, com seus genomas alterados, evoluem gradualmente através de uma sequência de alterações genéticas e expansões clonais que geram lesões ao DNA que se acumulam ao longo do tempo em um clone que finalmente aparece em uma expansão clonal; ou se apresentam poucas e grandes mudanças pontuais, provocadas por um evento agudo ou um único e evento mitótico catastrófico que gera grandes danos ao genoma (GREAVES; MALEY, 2012).

Entende-se que a frequência de lesões clonais pré-malignas ou no estágio carcinoma *in situ* excede substancialmente as taxas clínicas de câncer, sendo que neste estágio de desenvolvimento tumoral as células clonais têm longos períodos de dormência e estase. No entanto, a evolução do clone maligno provavelmente ultrapassa um ponto sem retorno, possivelmente no estágio de crescimento metastático. Se a capacidade proliferativa ilimitada é garantida pela estabilização do telômero, então a expansão clonal é interrompida apenas quando o tamanho ameaça a vida do paciente (GREAVES; MALEY, 2012) (ZHANG et al., 2024).

A evolução somática tumoral depende da taxa de mutação e da expansão clonal. A taxa de mutação varia substancialmente entre diferentes regiões do genoma e entre diferentes tipos de alterações genéticas, como mudanças de sequência de uma única base, rearranjos cromossômicos e fusões de genes. Além disso, as taxas de mutação aumentarão com a indução da instabilidade genética. A taxa de mudança epigenética tem sido estimada como ordem de magnitude maior do que a da mudança genética, e pode ser um determinante importante da evolução clonal. A seleção natural também pode afetar a variação epigenética dentro das neoplasias, pois tais mudanças são herdadas na divisão celular e podem afetar os fenótipos celulares (GREAVES; MALEY, 2012) (ZHANG et al., 2024).

Resultados de múltiplas transformações em células malignas sugerem que agrupamentos celulares com informações genéticas iniciais não são levados ao desaparecimento por expansões clonais subsequentes e podem continuar a existir. Esta é uma das características das neoplasias que garante heterogeneidade celular durante a carcinogênese e evolução somática tumoral e baseia-se no modelo de evolução clonal (GREAVES; MALEY, 2012). Este modelo foca na mutação aleatória e na seleção clonal para gerar essa heterogeneidade celular. Com a análise das

mutações dos genomas de tumores sólidos, incluindo o câncer de mama, foi possível observar a existência de diversos subclones. As células que pertencem aos subclones podem interagir através de interações parácrinas pela secreção de exossomas. Além disso, vários estudos demonstraram a existência de subclones geneticamente semelhantes e geneticamente diversos em tumores primários e metástases em um mesmo paciente, o que reforça a ideia dos modelos de evolução clonal (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015).

Outro modelo aceito que busca explicar a heterogeneidade celular durante a evolução tumoral é o modelo de células-tronco de câncer. Este modelo baseia-se em uma organização celular hierárquica, em que, no topo dessa hierarquia, estão células que exibem propriedades de células-tronco (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015). Em condições fisiológicas normais, as células-tronco estão envolvidas na manutenção da homeostase dos tecidos e no reparo após lesões. As células-tronco representam uma pequena parte da população celular de cada tecido, com capacidade ilimitada de autorrenovação, bem como pela habilidade de proliferar e gerar todas as células mais diferenciadas que os compõem. Além disso, fatores de crescimento ou citocinas são necessários para manter sua população, pois as células tronco não sobrevivem fora do microambiente adequado (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021). No entanto, ao contrário do papel fisiológico das células-tronco, quando as células sofrem transformação maligna, também podem adquirir essas propriedades e as utilizam para sustentar a iniciação, manutenção, progressão e recorrência do câncer. Essas características semelhantes a células-tronco não incluem apenas a autorrenovação ilimitada e a capacidade de dar origem a uma população heterogênea de células similares ao tumor primário com alta plasticidade. As células-tronco tumorais também são mais resistentes à redução ambiental de nutrientes, hipóxia e à própria terapia contra o câncer. Como uma das características funcionais que definem uma célula-tronco tumoral é a capacidade de formar um tumor, as células-tronco tumorais também são conhecidas como células iniciadoras de tumor (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021). A organização tumoral hierárquica foi demonstrada em tumores sólidos como o da mama, e a maioria das evidências sugere que a grande parte dos tumores hematológicos e sólidos contém células que exibem propriedades de células-tronco (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015).

Embora haja mais de uma forma de explicar esta heterogeneidade celular dos tumores, os modelos de evolução clonal e de células-tronco não excluem-se mutuamente. As células-tronco tumorais podem servir como a unidade de seleção na

evolução genética dos tumores, ao mesmo tempo em que são geneticamente instáveis, gerando múltiplos clones consistindo em células-tronco tumorais geneticamente alteradas com progênie diferenciada. Além disso, as células malignas podem exibir grande plasticidade fenotípica, e há evidências de que células tumorais mais diferenciadas podem adquirir propriedades de células-tronco através de um processo de desdiferenciação e manutenção da pluripotencialidade (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015).

As principais propriedades das células malignas, também conhecidas como características fundamentais do câncer, que permitem a formação de tumores são descritas por Hanahan e Weinberg em seus trabalhos denominados “*Hallmarks of cancer*”. Nesses trabalhos os pesquisadores sugerem um conjunto de características que as células malignas adquirem, que as diferencia de uma célula saudável, tais como, “sustentação da sinalização proliferativa”, “evasão de supressores de crescimento”, “resistência à morte celular”, “capacitação da imortalidade replicativa”, “indução de angiogênese”, “ativação da invasão e metástase”, “desregulação do metabolismo energético”, “evasão da destruição imune”, “instabilidade genômica e mutação” e “inflamação promotora de tumor”. (SENGA; GROSE, 2023) (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

5.1.2 Microambiente tumoral

O desenvolvimento do câncer está fortemente associado ao estado fisiológico do microambiente tumoral, composto por matriz extracelular, células estromais e células imunológicas. O microambiente tumoral é parte indispensável na biologia do tumor e está envolvido na tumorigênese, progressão e resposta ao tratamento. À medida que as células malignas se proliferam, o tumor aumenta de tamanho com uma remodelação associada do microambiente tumoral. Isso é induzido por hipóxia, estresse oxidativo e acidose, devido a alterações do metabolismo das células malignas, resultando em displasia, que é o aparecimento de uma população heterogênea de células tumorais com diferentes características genéticas e fenotípicas. Esses eventos são coordenados por comunicações autócrinas e parácrinas entre as células do microambiente tumoral e induzem a sua maturação e a progressão do tumor, resultando em aumento da rigidez da matriz extracelular, angiogênese, aparecimento de regiões necróticas e metástase (ROMA-RODRIGUES et al., 2019).

5.1.3 Exossomas

A comunicação intercelular é um dos aspectos centrais da progressão do câncer e da modelação do microambiente tumoral. Nesse sentido, os exossomas representam um modo de comunicação intercelular e contribuem para uma ampla gama de processos biológicos na saúde e na doença, incluindo o câncer. Exossomas associados ao câncer são vesículas extracelulares produzidas e secretadas por células malignas, células-tronco tumorais e células associadas ao microambiente tumoral na comunicação parácrina. A função biológica dos exossomas depende do respectivo conteúdo. Algumas moléculas presentes nesses conteúdos atuam como mediadores da transdução de sinal entre as células malignas, ou entre as células associadas ao microambiente tumoral, e contribuem para o desenvolvimento do tumor, invasão, metástase e resistência aos fármacos (DAI et al., 2020).

Os exossomas são compostos majoritariamente por uma parte lipídica e uma parte proteica. Nesse sentido, são compostos por lipídios que podem ser encontrados em membranas plasmáticas como esfingolipídios, colesterol, fosfatidilserina, ácidos graxos saturados e ceramidas. Já o proteoma inclui proteínas relacionadas ao tráfego de membrana, como as tetraspaninas (CD63, CD81, CD82 e CD9), proteínas de choque térmico (Hsp60, Hsp70 e Hsp90), integrinas e proteínas do complexo de principal de histocompatibilidade classe II. Entretanto, os exossomos não representam simplesmente a composição proteica das células parentais. Certas proteínas são enriquecidas nos exossomos por seleção seletiva da carga proteica controlada por modificações pós-traducionais. Uma delas é a ubiquitinação das proteínas da carga (ISAAC et al., 2021).

Além de proteínas e lipídeos, diferentes tipos de RNA podem estar presentes em exossomas, incluindo mRNA e RNAs não codificantes. Nesse sentido, tanto miRNAs quanto pré-miRNAs podem ser empacotados em exossomas para entregar informações. O mecanismo exato para o empacotamento de miRNAs em exossomas ainda não está claro, mas as diferenças no conteúdo de miRNA entre exossomas e respectivas células parentais sugerem um carregamento seletivo de miRNAs (ISAAC et al., 2021). As proteínas dos exossomos são responsáveis pelo controle do conteúdo das vesículas, sendo que para manter a oncogênese e metástases, as células-tronco tumorais tendem a sequestrar preferencialmente miRNAs supressores de tumor por

vesículas e secretá-los como miRNAs exossômicos. Assim, não apenas inibem o crescimento de células no ambiente circundante, mas também atingem células mais distantes. Os perfis de miRNA dos exossomos fornecer indícios de grupos de células-alvo e possíveis funções. (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). Por exemplo, o miRNA-144-3p tem sido estudado como um supressor tumoral em câncer de mama, e de fato, o aumento da expressão deste miRNA em células estromais relacionada a respectiva liberação exossômica tem sido relatada (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). Isso significa uma possível ligação entre a perda de miRNA supressor tumoral no câncer e a secreção de exossomos (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016).

Além de carregar miRNAs supressores de tumor, a função dos exossomos também está envolvida na transmissão intercelular de miRNAs com ação oncogênica. Pode-se mencionar como exemplo que em células cancerígenas, a expressão de miRNAs oncogênicos é regulada positivamente, sendo posteriormente secretados via exossomos, promovendo a progressão tumoral e as metástases. No entanto, é geralmente reconhecido que os exossomos não incluem apenas um tipo de miRNA; pelo contrário, um amplo espectro de miRNAs é simultaneamente transportado via exossomos (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016).

Particularmente quanto ao miR-144-3-p, tem sido relatado estar associado a exossomos CD63. Esses achados reforçam a ideia de que os miRNAs são seletivamente empacotados em exossomos e estabelecem o miRNA-144-3p como miRNA exossômico específico (SHURTLEFF et al., 2016).

Em resumo, sequências específicas presentes nos miRNAs podem guiar a incorporação em exossomos, enquanto outras proteínas podem controlar a seleção de miRNAs exossômicos de forma independente da sequência (SHURTLEFF et al., 2016). Alguns deles podem atuar como biomarcadores, para estudar possíveis mecanismos de detecção precoce do câncer ou diagnóstico precoce, para prognóstico e para avaliação da eficácia terapêutica (DAI et al., 2020).

5.2 CÂNCER DE MAMA

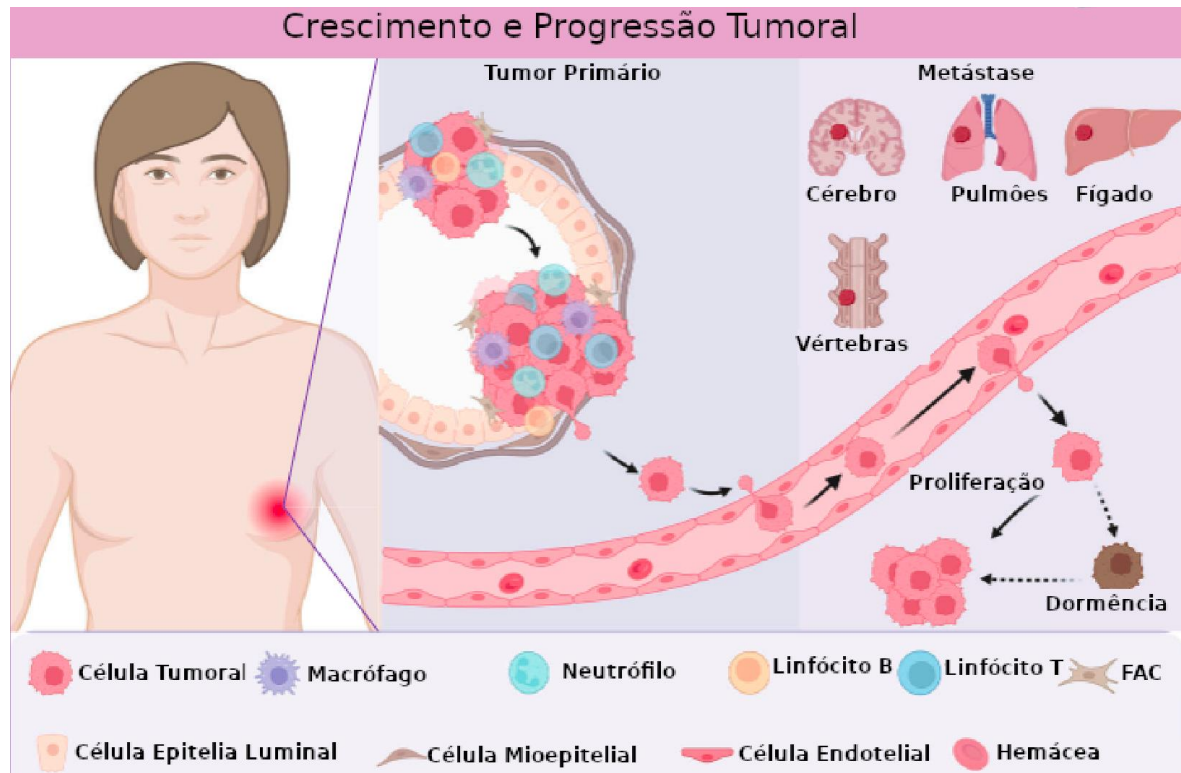
5.2.1 Aspectos gerais

Os tumores de mama originam-se nos ductos mamários e/ou nos lóbulos produtores de leite da mama, sendo caracterizados pelo crescimento desordenado de células mamárias. A forma inicial "*in situ*" não apresenta risco de vida e o câncer pode

ser detectado logo no início. Entretanto, a forma “invasiva” pode formar tumores, causar nódulos, inchaço mamário ou alterações no formato e tamanho da mama, além de espalhar-se para o tecido mamário adjacente, linfonodos próximos ou para outros órgãos através de metástases e ser potencialmente fatal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024).

Na carcinogênese mamária há uma série de eventos genéticos e ambientais que direcionam a transformação de células normais em células malignas, passando pelos estágios de hiperplasia, alteração pré-maligna e carcinoma *in situ* (XIONG et al., 2025). Mutações germinativas, seguidas por mutações somáticas subsequentes causadas por diversos fatores ambientais ou pela exposição a altos níveis de estrogênio, levam ao acúmulo de alterações genômicas (XIONG et al., 2025). Quando essas alterações genômicas ocorrem em proto-oncogenes, e as subvertem em oncogenes, ou quando ocorrem em genes supressores de tumor, há uma desregulação dos genes envolvidos na maquinaria de ciclo celular, reparo de DNA e na apoptose, o que pode resultar em expansão clonal, proliferação desordenada e acúmulo de células clonais alteradas que leva à hiperplasia ductal, inicialmente sem atipia (XIONG et al., 2025) (MISHRA; YADAV; RANI, 2016). A expansão das células clonais mutadas ocorre através da estimulação da proliferação celular por fatores de crescimento autócrinos ou pela ativação de células inflamatórias e do estroma do microambiente tumoral para produzir esses fatores, evoluindo também mecanismos de evasão do sistema imunológico (XIONG et al., 2025). Essas alterações cumulativas, provenientes tanto de instabilidades genômicas quanto de fatores externos resultam em lesões ao DNA, que gradualmente, aumentam e acumulam-se a ponto de ultrapassar a capacidade de autorreparo, contribuindo para o surgimento do carcinoma *in situ*, em que as células malignas permanecem confinadas dentro dos ductos e ainda não invadiram os tecidos adjacentes (XIONG et al., 2025) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

Figura 2 – Crescimento e progressão câncer de mama



Representação esquemática do crescimento e progressão do câncer de mama. Fonte: Adaptado de XIONG et al., 2025

A progressão do tumor de mama, de in situ para invasivo é caracterizada pela aquisição de propriedades invasivas e metastáticas, semelhantes a células-tronco, facilitada por alterações genéticas e interações com o microambiente tumoral. A fase invasiva é frequentemente marcada por aumento da agressividade e maior risco de disseminação à distância, ressaltando a importância da detecção e de tratamentos precoces (XIONG et al., 2025). Isso também sugere que a identificação de mecanismos que controlam a capacidade das células de adquirirem fenótipo de células-tronco no câncer pode elucidar novas alternativas para o tratamento do câncer de mama. As vias de sinalização molecular que governam a homeostase normal das células-tronco são rigidamente reguladas. Portanto, espera-se que muitas dessas vias estejam anormalmente ativadas ou reprimidas nas células-tronco tumorais (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021).

Existem muitos fatores que influenciam a tumorigênese do câncer de mama nas mulheres, sendo que algumas evidências apontam à complexa interação entre fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida como contribuintes para esse processo. Entre esses fatores, destacam-se a idade acima de 40 anos, obesidade,

consumo nocivo de álcool, histórico familiar de câncer de mama, histórico de exposição à radiação, histórico reprodutivo, uso de tabaco e terapia hormonal pós-menopausa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024) (XIONG et al., 2025). Destacam-se, ainda, fatores genéticos que aumentam consideravelmente o risco de desenvolvimento de câncer de mama, além de estarem relacionados com pior prognóstico, tais como mutações nos genes BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2 e TP53, que apresentam atividades biológicas comparáveis, como reparo de danos no DNA, e genes típicos envolvidos na síntese de estrogênio, como CYP17, CYP19, GSTM1 e NQO2. Embora não tenha valor de diagnóstico na prática clínica rotineira e individualmente a alteração genética nesses genes seja de baixa relevância, o efeito de superposição ou sinergia de múltiplas alterações pode apresentar grande relevância clínica na escolha do tratamento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024) (KATSURA et al., 2022) (XIONG et al., 2025).

5.2.2 Diagnóstico câncer de mama

O diagnóstico de pacientes com câncer de mama em estágios iniciais é um dos aspectos importantes no manejo da doença, e envolve a avaliação bilateral das mamas, tórax, axilas e linfonodos regionais, além de sintomas característicos (KATSURA et al., 2022). Sinais e sintomas irão depender do estágio de avanço da doença, mas geralmente incluem, aparecimento de nódulo mamário com características endurecidas, imóveis, irregulares ou fixas, inchaço mamário ou alterações no formato e tamanho da mama; alterações na pele, incluindo eritema, enrugamento, vermelhidão, “aspecto de casca de laranja”, mudança na aparência do mamilo ou aréola, e secreção anormal ou com sangue (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024) (KATSURA et al., 2022).

A investigação inicial dá-se por observação desses sinais e sintomas e palpação das mamas, permitindo detectar diferenças na densidade e na textura do tecido mamário, e palpação bilateral dos linfonodos axilares e supraclaviculares. Entretanto, a maioria das pessoas não apresentará sintomas nos estágios iniciais da doença, razão para a realização de exames de imagem periódicos, como ultrassonografia, mamografia, tomossíntese, ressonância magnética e tomografia é importante, pois possibilita detectar alterações no tecido da mama antes que se tornem palpáveis, aumentando as chances de tratamento bem-sucedido (KATSURA et al., 2022) (MCDONALD et al., 2016).

A mamografia é considerada a técnica padrão-ouro para a detecção de pacientes com câncer de mama, sendo associada a diversos benefícios, como alta sensibilidade e especificidade, baixo custo e boa tolerância, utiliza raios-X para identificação das alterações e é recomendada anualmente para mulheres a partir dos 40 anos; já a ultrassonografia utiliza ondas sonoras para avaliar as estruturas internas da mama permitindo uma avaliação direcionada, mostra o tamanho e posição do tumor e indica se ele está preenchido por líquido ou se é sólido, ambas as técnicas são consideradas rotineiras (KATSURA et al., 2022) (AKRAM et al., 2017). A tomossíntese digital da mama utiliza tomografia computadorizada e processamento digital para fornecer imagens tridimensionais por raio-X do tecido mamário, complementando os achados da mamografia (KATSURA et al., 2022). Alguns pacientes podem necessitar de ressonância magnética com contraste para auxiliar decisões, como a possibilidade de cirurgia conservadora, determinar o tamanho do tumor quando houver discrepância entre modalidades de imagem ou monitorar a resposta à quimioterapia. A ressonância magnética fornece resultados mais precisos e um benefício claro para mulheres que estão desenvolvendo um tumor na mama devido à mutação genética nos genes BRCA1 e BRCA2, e que apresentam linfadenopatia axilar (KATSURA et al., 2022) (AKRAM et al., 2017).

A melhor técnica para diagnóstico de câncer de mama é a biópsia mamária, que ao ser realizada, simultaneamente com o exame clínico das mamas e exames de imagem, resulta em um aumento da precisão diagnóstica e diminuição de resultados falso-negativos (KATSURA et al., 2022). Existem tipos diferentes de biópsias mamárias, na prática clínica, a amostra de tecido é geralmente obtida por aspiração por agulha fina, biópsia por agulha grossa ou excisão cirúrgica (KATSURA et al., 2022).

O câncer de mama é uma neoplasia altamente heterogênea e tumores em estágios clínicos semelhantes podem apresentar desfechos clínicos diferentes. Embora a classificação da doença possa ser feita a partir de testes de perfil de expressão gênica, tais testes não são acessíveis ao público geral. Além disso, a classificação dos subtipos com base em ensaios de expressão proteica da amostra, utilizados como biomarcadores, por meio da imuno histoquímica é a mais utilizada e direciona as decisões terapêuticas (HARBECK; GNANT, 2017).

5.2.3 Classificação imunohistoquímica dos subtipos de câncer de mama

A análise por imunohistoquímica é realizada para avaliar a presença ou a ausência da expressão dos receptores hormonais e de crescimento, que são conhecidos por mediar sinais de proliferação celular, como, receptor de estrogênio, receptor de progesterona e HER2, além da Ki67. (MCDONALD et al., 2016) (HARBECK; GNANT, 2017) (DAI et al., 2016). Ki-67, uma proteína codificada pelo gene marcador de proliferação Ki-67 (MKI67), é um antígeno de membrana celular, presente em células em ciclo celular ativo, estando relacionado à característica fundamental do câncer, a “sinalização proliferativa sustentada” (DAI et al., 2016). Esse marcador é utilizado para determinar a proliferação celular e considerado um biomarcador prognóstico no câncer de mama, embora com valor incerto no contexto de pacientes com câncer de mama triplo negativo (HARBECK; GNANT, 2017) (MCDONALD et al., 2016) (DAI et al., 2016) (DA SILVA et al., 2020). A partir dos resultados da imunohistoquímica, a doença é classificada em quatro subtipos clinicamente relevantes: luminal A (receptor de estrogênio positivo, receptor de progesterona positivo e HER2 negativo), luminal B (receptor de estrogênio positivo, receptor de progesterona positivo e HER2 positivo), HER2 enriquecido (receptor de estrogênio negativo, receptor de progesterona negativo e HER2 positivo), e câncer de mama *basal-like* ou câncer de mama triplo negativo (em que os três receptores estão ausentes) (HARBECK; GNANT, 2017)(MCDONALD et al., 2016)(DAI et al., 2016).

Marcadores de imunohistoquímica, analisados em conjunto com variáveis clínico-patológicas como tamanho do tumor, Ki67, comprometimento linfonodal, tipo histológico e margens cirúrgicas, são utilizados para determinação do prognóstico, além de predição e seleção do tratamento (HARBECK; GNANT, 2017) (DAI et al., 2016). O subtipo Luminal A, caracterizado pela presença de receptor de estrogênio, receptor de progesterona, ausência de HER2 e Ki-67 <14%, tem excelente resposta à terapia endócrina, que é a principal intervenção, e prognóstico favorável. Neste tipo de tumor a quimioterapia é indicada apenas em casos de alto risco (HARBECK; GNANT, 2017). O Luminal B, apresenta expressão de receptor de estrogênio, receptor de progesterona, pode ou não expressar HER2 e tem Ki-67 ≥20%, tem seu tratamento baseado em terapia endócrina e quimioterapia, e se caso apresentar o HER2, terapia anti-HER2 (HARBECK; GNANT, 2017). Já o subtipo HER2-positivo difere dos dois primeiros por não apresentar expressão de receptor de estrogênio, receptor de

progesterona, e o HER2 ser superexpresso, neste caso apenas terapia anti-HER2 com trastuzumabe e quimioterapia são indicados (MCDONALD et al., 2016). O subtipo câncer de mama *basal-like* também é conhecido como câncer de mama triplo negativo por não apresentar expressão de receptor de estrogênio, receptor de progesterona e HER2. Como as terapias para a doença incluem terapias-alvo direcionadas contra os receptores receptor de estrogênio, receptor de progesterona e HER2, o tratamento do triplo negativo e *basal-like* acaba sendo um desafio, pois este subtipo não expressa tais receptores e as terapias-alvo acabam sendo ineficazes. As opções de tratamento limitam-se à remoção cirúrgica, quimioterapia e radioterapia (KATSURA et al., 2022).

5.2.4 Subtipos moleculares câncer de mama triplo negativo

Entre os subtipos de câncer de mama apresentados o *basal-like* ou triplo negativo tem grande relevância, dada a ausência de terapias-alvo, seu comportamento clínico agressivo e alta mortalidade. Embora tanto o *basal-like* quanto o triplo negativo não apresentem os receptores receptor de estrogênio, receptor de progesterona e HER2, nem todos o *basal-like* são triplo negativo, e nem todos os triplo negativos são *basal-like*, esta sobreposição ocorre porque a classificação *basal-like* é baseada no conjunto de genes, e a classificação triplo negativo se baseia apenas na ausência dos receptores específicos (GOLDHIRSCH et al., 2013). A identificação de tumores *basal-like* dentro do subtipo triplo negativo é necessária para estratégias terapêuticas mais eficazes, uma vez que apresentam características moleculares distintas e respondem de maneira diferente à quimioterapia (GOLDHIRSCH et al., 2013).

A heterogeneidade do câncer de mama triplo negativo vai além da divisão baseada em imunohistoquímica e biomarcadores moleculares mostram-se necessários para a subclassificação mais aprofundada do tipo de câncer de mama triplo negativo, seleção de terapias alvo moleculares e individualização da quimioterapia. A partir da subtipagem utilizando imunohistoquímica e testes de perfil de expressão gênica como *Prediction Analysis of Microarray* (PAM - 50), que analisa a expressão de 50 genes em amostra de tecido tumoral, de mRNA, miRNA, DNA e epigenéticas foi possível classificar o câncer de mama triplo negativo num primeiro momento em seis subtipos moleculares: imunomodulador (IM), mesenquimal (MES), semelhante a célula-tronco mesenquimal (MSL), receptor androgênico luminal (RAL) e dois subtipos basal-like (BL1 e BL2). Posteriormente, essa subclassificação foi

refinada e reagrupada em quatro subtipos estáveis: *basal-like* imuno ativado (BLIA), *basal-like* imuno suprimido (BLIS), mesenquimal (MES) e Luminal/Receptor de Andrógeno (LRA), com base em uma análise retrospectiva de conjuntos de dados de ensaios clínicos. (BURSTEIN et al., 2015) (LEHMANN et al., 2011) (LEHMANN et al., 2016) (DA SILVA et al., 2020).

O subtipo *basal-like* apresenta expressões genéticas envolvendo sinalização de fatores de crescimento (via EGF, via NGF, via TEM, Wnt/ β -catenina e via IGF1R), bem como glicólise e gliconeogênese, e níveis mais elevados de expressão de TP63, de citoqueratina 5 e 6, 14 e 17, EGFR e vimentina, (DAI et al., 2016) (USMAN et al., 2021). O câncer de mama *basal-like* pode ainda apresentar repressão de vias imuno regulatórias relacionadas a células B, T e natural killer, além de vias de citocinas, denominado como *basal-like* com supressão Imunológica (BLIS); ou mostrar ativação das funções de células B, T e natural killer, denominado *basal-like* com ativação imunológica (BLIA) (DAI et al., 2016) (BURSTEIN et al., 2015). O BLIS apresenta os piores resultados em sobrevida livre de doença e sobrevida específica da doença, além de baixa expressão de moléculas que controlam a apresentação de antígenos, a diferenciação de células imunes e a comunicação de células imunes inatas e adaptativas. Este agrupamento também expressa de forma única múltiplos fatores de transcrição da família SOX (DAI et al., 2016) (BURSTEIN et al., 2015). Já o BLIA apresenta o melhor prognóstico, exibe a ativação de vias mediadas pelo fator de transcrição STAT e possui alta expressão de genes STAT (DAI et al., 2016) (BURSTEIN et al., 2015).

O subtipo triplo negativo mesenquimal (MES) é caracterizado por alta expressão de componentes e vias envolvidas na motilidade celular, com transição epitelial para mesenquimal com características de células-tronco, também descrito como semelhante a "células-tronco mesenquimais" ou "claudin-low" (proteínas claudinas são importantes para a adesão celular e a formação de junções entre células e são pouco expressas neste subtipo tumoral) (BURSTEIN et al., 2015), e vias de diferenciação celular (via Wnt, via ALK — cinase do linfoma anaplásico, e sinalização TGF- β) diferenciação celular e vias de crescimento (via ALK, sinalização TGF- β e via Wnt/ β -catenina), fatores de crescimento importantes (IGF-1) são altamente expressos neste subtipo. O subtipo MES também é singularmente enriquecido em genes envolvidos na angiogênese, incluindo VEGFR2 (BURSTEIN et al., 2015).

E o subtipo Luminal/Receptor de Andrógeno (LRA), com alta expressão de receptor andrógeno (RA). Embora este subtipo seja receptor de estrogênio negativo,

expressões genéticas são amplamente enriquecidas em vias reguladas hormonalmente, como a síntese de esteróides, o metabolismo de porfirinas, compostos orgânicos conhecidos pela sua capacidade de se ligar a íons metálicos e desempenham funções importantes na hemoglobina, e o metabolismo de andrógenos/estrógenos (BURSTEIN et al., 2015).

5.2.5 Biomarcadores basais

Além da classificação pela expressão dos receptores hormonais, um número crescente de marcadores imunohistoquímicos basais podem ser analisados para identificação do subconjunto de câncer de mama triplo negativo, e diferenciar tumores basais dos não basais, entre os quais as citoqueratinas 5/6, 14, 17, 8/18, receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), receptor andrógeno, p53 e vimentina são os mais amplamente aceitos (DA SILVA et al., 2020).

Marcadores tumorais como o EGFR, uma glicoproteína transmembranar com um domínio tirosina cinase que ativa vias de transdução de sinais relacionadas a inibição da apoptose e proliferação celular; as citoqueratinas proteínas do citoesqueleto intermediário de tecidos epiteliais e mais recentemente, vimentina, principal proteína de filamentos intermediários das células mesenquimais e responsável pela regulação da interação entre proteínas do citoesqueleto (incluindo citoqueratinas) e moléculas de adesão celular (como a P-caderina); estão relacionados às características fundamentais do câncer “invasão e metástases” e participam, na adesão celular, migração, invasão e transdução de sinais em células tumorais (DAI et al., 2016)(USMAN et al., 2021). Alguns estudos sugerem também que há correlação entre mutações no gene BRCA1 e expressão de mais de um tipo de citoqueratina basal, e que pode ser possível estabelecer um valor preditivo das citoqueratinas basais para mutações em BRCA1 (DAI et al., 2016).

A proteína p53, codificada pelo gene 53 da proteína do tumor (TP53), é responsável pela supressão do crescimento tumoral e é essencial para manter a integridade do genoma no processo de resposta celular quando as células enfrentam condições de estresse, como danos ao DNA, hipóxia e ativação de oncogenes. Quando ocorre dano ao DNA, há um aumento na transcrição de p53, provocando a parada do ciclo celular e reparo do DNA ou morte celular. Danos ao gene TP53 que diminuam a expressão da proteína ou codifiquem uma p53 anômala podem resultar em regulação negativa de proteínas supressoras tumorais análogas como p63 e p73,

e comprometer a estabilidade genômica, resultando em uma maior taxa de mutações e proliferação descontrolada de células danificadas evitando a apoptose. A baixa expressão de mRNA codificante da p53 foi associada a um prognóstico desfavorável em pacientes com mutação no gene TP53 (DAI et al., 2016) (DA SILVA et al., 2020). TP63, gene codificante das isoformas p63 das proteínas análogas a p53 tem sido associado a uma função supressora de tumor no processo metastático, e estão relacionadas à característica fundamental do câncer “instabilidade genômica e mutação” (DAI et al., 2016).

O receptor andrógeno é o receptor hormonal esteróide sexual e de crescimento, é um potencial marcador prognóstico e alvo terapêutico no câncer de mama, parecendo desempenhar um papel semelhante ao do HER2, está relacionado a característica fundamental do câncer “sustentação do sinal proliferativo”. Com a diminuição da resposta aos sinais proliferativos, os tumores mamários apresentam aumento da agressividade e redução no número de terapias-alvo disponíveis (DAI et al., 2016).

5.3 MICRORNAS

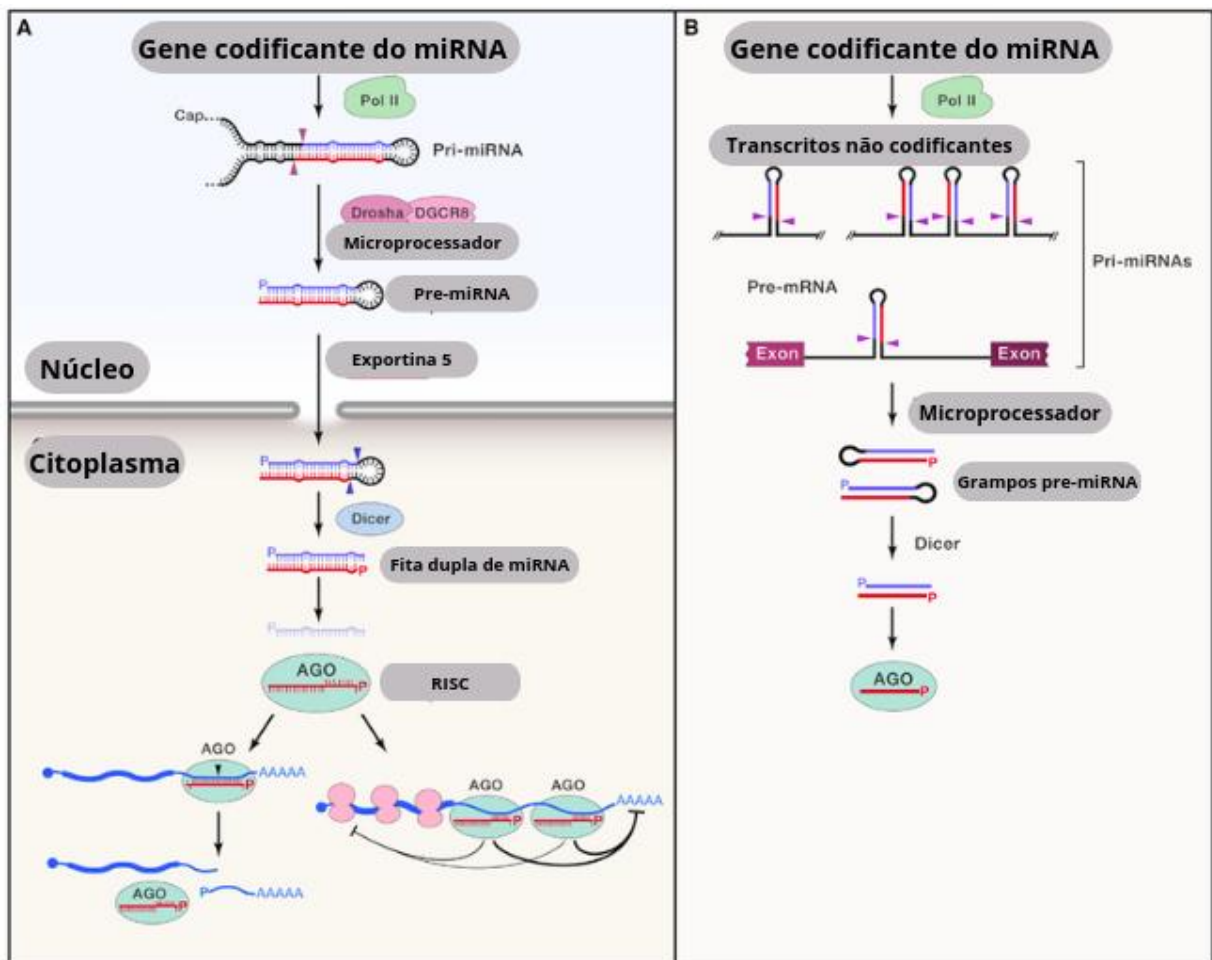
Biomarcadores podem ser definidos como variáveis biológicas quantificáveis de forma reprodutível, por isso, algumas moléculas quantificáveis e relacionadas à maquinaria do ciclo celular e processos tumorais, têm sido exploradas para melhorar a identificação do subtipo câncer de mama triplo negativo, orientar o tratamento e a abordagem dos pacientes (FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP, 2016) (DA SILVA et al., 2020). Nesse sentido, pesquisadores têm utilizado ferramentas de genômica, bioinformática e biologia molecular para encontrar microRNAs (miRNAs) que forneçam informações diagnósticas valiosas. MiRNAs são pequenas moléculas de RNAs não codificantes com 18-25 nucleotídeos de tamanho, que regulam a expressão gênica e são evolutivamente conservados. Desde a descoberta desses pequenos RNAs em 1993, por Victor Ambros e Gary Ruvkun, no nematóide *Caenorhabditis elegans*, tem sido demonstrado que os miRNAs são capazes de modular a atividade de genes regulando a expressão pós transcricional de RNAs mensageiros envolvidos em processos celulares fundamentais, como desenvolvimento, diferenciação, proliferação, sobrevivência e morte (AMBROS, 2004) (MENON et al., 2022). Um único miRNA têm a capacidade de regular a expressão pós transcricional de múltiplos genes (AMBROS, 2004). Entre eles, o miRNA-144-3p tem

destacado-se. Evidências crescentes indicam o miRNA-144-3p na modulação de processos fisiopatológicos, como proliferação, apoptose, invasão, migração e angiogênese em diferentes células tumorais (ZHOU et al., 2020).

5.3.1 Biogênese dos miRNAs

O gene que codifica o miRNA é inicialmente transcrito pela RNA polimerase II como uma longa molécula em forma de grampo, transcrito primário (pri-miRNA) no núcleo celular. (BARTEL, 2018). Os pri-miRNAs passam por um processamento adicional pelas ribonucleases *Drosha* e pelo complexo *DiGeorge syndrome critical region gene 8* (DGCR8) no núcleo, resultando em um intermediário em forma de grampo de aproximadamente 70-100 nucleotídeos, precursor de miRNA (pre-miRNA) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010). A estrutura em grampo do pre-miRNA é exportada para o citoplasma pela exportina-5, onde é clivada pela RNase *Dicer*, formando uma fita dupla de miRNA com aproximadamente 22 nucleotídeos (DIENER; KELLER; MEESE, 2022). A enzima de ligação a RNA de fita dupla (TRBP) liga-se à fita com a extremidade 5', termodinamicamente menos estável, e carrega a fita dupla na orientação correta para a proteína argonauta (AGO) (CATALANOTTO; COGONI; ZARDO, 2016) (BARTEL, 2018). A AGO então desenrola a fita dupla, remove a fita passageira e retém a molécula madura de miRNA para formar o complexo funcional de silenciamento induzido por miRNA (miRISC), que é composto por *Dicer*, a *Trinucleotide repeat-containing gene 6A protein* (Proteína do gene 6A contendo repetição de trinucleotídeos) (TNRC6A) e AGO, enquanto a outra fita é degradada (BARTEL, 2018; LIU et al., 2018^a; CATALANOTTO; COGONI; ZARDO, 2016). A proteína AGO é um componente essencial do sítio catalítico do complexo miRISC que interage com as transcrições de RNA alvo e desempenha um papel crítico na biogênese, maturação e função dos miRNAs (NUSSBACHER; YEO, 2018).

Figura 3 - (A) Biogênese e mecanismo de ação de um típico miRNA.
(B) Fontes típicas de miRNAs.



A maioria dos miRNAs deriva dos íntrons ou éxons de transcritos primários não codificadores, alguns dos quais contêm estruturas em grampo para mais de um miRNA. Além disso, muitos miRNAs também derivam de íntrons de pré-miRNAs. Fonte: Adaptado de BARTEL, 2018.

5.3.2 Mecanismo de ação

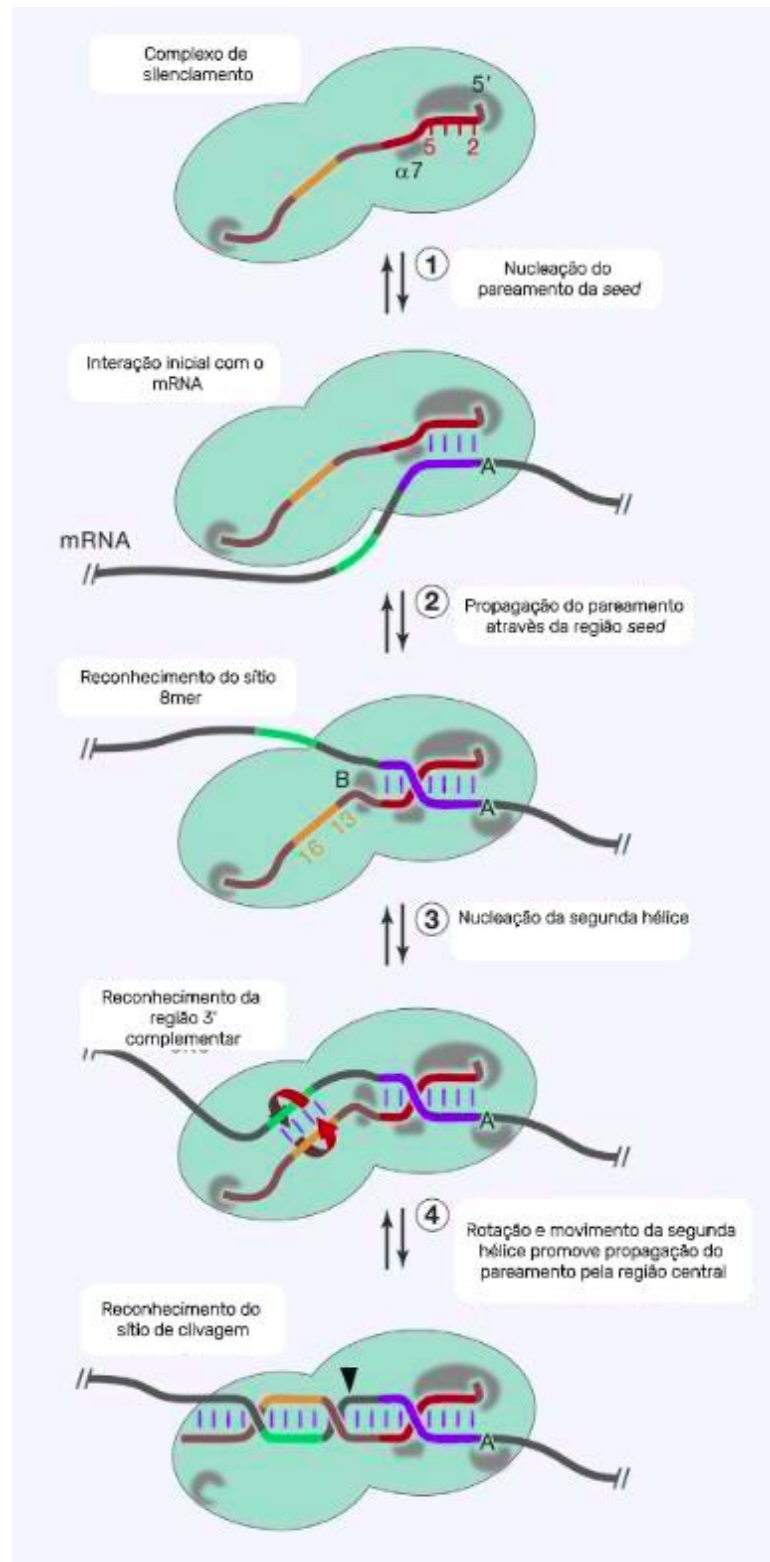
O mecanismo de ação primário dos miRNAs é a regulação pós-transcricional da expressão gênica principalmente no citoplasma, mas também apresenta funções nucleares relacionadas à esta regulação (DIENER; KELLER; MEESE, 2022).

5.3.2.1 Mecanismo de ação citoplasmático

O miRNA maduro dentro do complexo RISC reconhece sequências complementares, principalmente na região 3' não traduzida (3' UTR) dos mRNAs alvo

(DIENER; KELLER; MEESE, 2022). A especificidade da ligação do miRNA é definida pela complementaridade de bases Watson-Crick entre as posições 2 a 8 da extremidade 5' do miRNA (conhecida como "*região seed*") e a região não traduzida 3' (3' UTR) dos mRNAs-alvo (LIU et al., 2018a). Quando a complementaridade é imperfeita entre o miRNA e a sequência do mRNA-alvo, o complexo RISC pode induzir a clivagem e subsequente degradação do mRNA via encaminhamento aos corpos de processamento (BARTEL, 2018) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010). Caso ocorra um pareamento com complementariedade alta ou perfeita entre o miRNA e o mRNA, a AGO impede a ligação do ribossomo ao mRNA, bloqueando a tradução, em um processo que envolve deadenilação e subsequente degradação do mRNA (BARTEL, 2018) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010) (CATALANOTTO; COGONI; ZARDO, 2016).

Figura 4 - Mecanismo de ação RISC



Modelo para o Reconhecimento de Alvos de miRNA e Propagação do Pareamento: O miRNA está firmemente ligado dentro do complexo silenciador. Além disso, interações com a região semente (vermelho) pré-organizam os nucleotídeos 2–5 para o pareamento inicial com o alvo (etapa 1). À medida que o pareamento se propaga através da região semente (etapa 2), a α -hélice 7 ($\alpha 7$), que inicialmente impõe uma dobra na região semente e um bloqueio estérico a essa propagação, se desloca

para um local onde reforça o pareamento Watson–Crick nas posições 6 e 7. A maioria dos sítios canônicos depende desse pareamento com a região semente, muitas vezes suplementado com uma interação adicional entre Ago e uma Adenina na posição 1 do alvo, mas com um bloqueio estérico e conformacional (B) impedindo que o pareamento contíguo se propague além da posição 8. Alguns sítios possuem um segmento (verde) que pode parear com a região 3' do miRNA, centralizando-se otimamente nos nucleotídeos 13–16 do miRNA (laranja) para nuclear uma segunda hélice de RNA (etapa 3). Como essa segunda hélice se forma do outro lado do bloqueio, ela pode se formar sem impedimento estérico. Esta segunda hélice contribui para o pareamento suplementar/compensatório na região 3' observado para alguns sítios. O pareamento pode então se formar entre a segunda hélice e a hélice semente, propagando-se de qualquer uma das hélices ou de ambas simultaneamente (etapa 4). Para acomodar a tensão torsional de formar esse pareamento entre as hélices, a segunda hélice gira em torno de seu eixo helicoidal, enquanto a hélice semente permanece fixa. À medida que a segunda hélice começa a girar e o pareamento se propaga da segunda hélice em direção à extremidade 3' do miRNA, a extremidade 3' é puxada de seu bolso de ligação, aliviando a tensão para maior rotação da segunda hélice e propagação total do pareamento (etapa 4). A propagação do pareamento através do bloqueio e outras mudanças conformacionais do RNA que geram uma longa hélice contígua são acopladas a mudanças conformacionais da proteína que ajudam a criar o sítio ativo para a clivagem do alvo (seta). Cada etapa antes da clivagem é reversível e, portanto, este modelo sugere uma via análoga para a liberação gradual da fita passageira durante a maturação do complexo silenciador, na qual um duplex de miRNA substitui o complexo miRNA–alvo totalmente pareado, e a via prossegue em sentido inverso. Fonte: Adaptado de BARTEL, 2018

A repressão da expressão gênica pode ocorrer por três mecanismos principais. Primeiro a AGO pode impedir a ligação do ribossomo ao mRNA impedindo sua transcrição (BARTEL, 2018). Outros dois mecanismos são responsáveis pela degradação do mRNA, um processo envolve recrutamento do complexo *deadenilase Carbon Catabolite Repression 4—Negative On TATA-less* (CCR4–NOT), que resulta na remoção da cauda poli(A) presente na extremidade 5' do mRNA por desadenilação (BARTEL, 2018). E outro processo em que a TNRC6 recruta o complexo de decapeamento Dcp1/2, que é capaz de hidrolisar a ligação fosfodiéster entre a região 5' e o primeiro nucleotídeo do mRNA, removendo a região 5' do mRNA, e reduzindo sua estabilidade (BARTEL, 2018) (LIU et al., 2018a). Independentemente de qual desses mecanismos ocorra, o resultado é a redução da quantidade de proteínas codificadas pelos mRNAs-alvo (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

Alguns miRNAs foram identificados ligando-se à região 5' UTR dos mRNAs-alvo e, em alguns casos, demonstraram ativar em vez de inibir a expressão gênica, os mecanismos envolvidos ainda não são totalmente compreendidos, e parecem depender de ligações de fatores a AGO, do contexto celular, incluindo o tipo de célula,

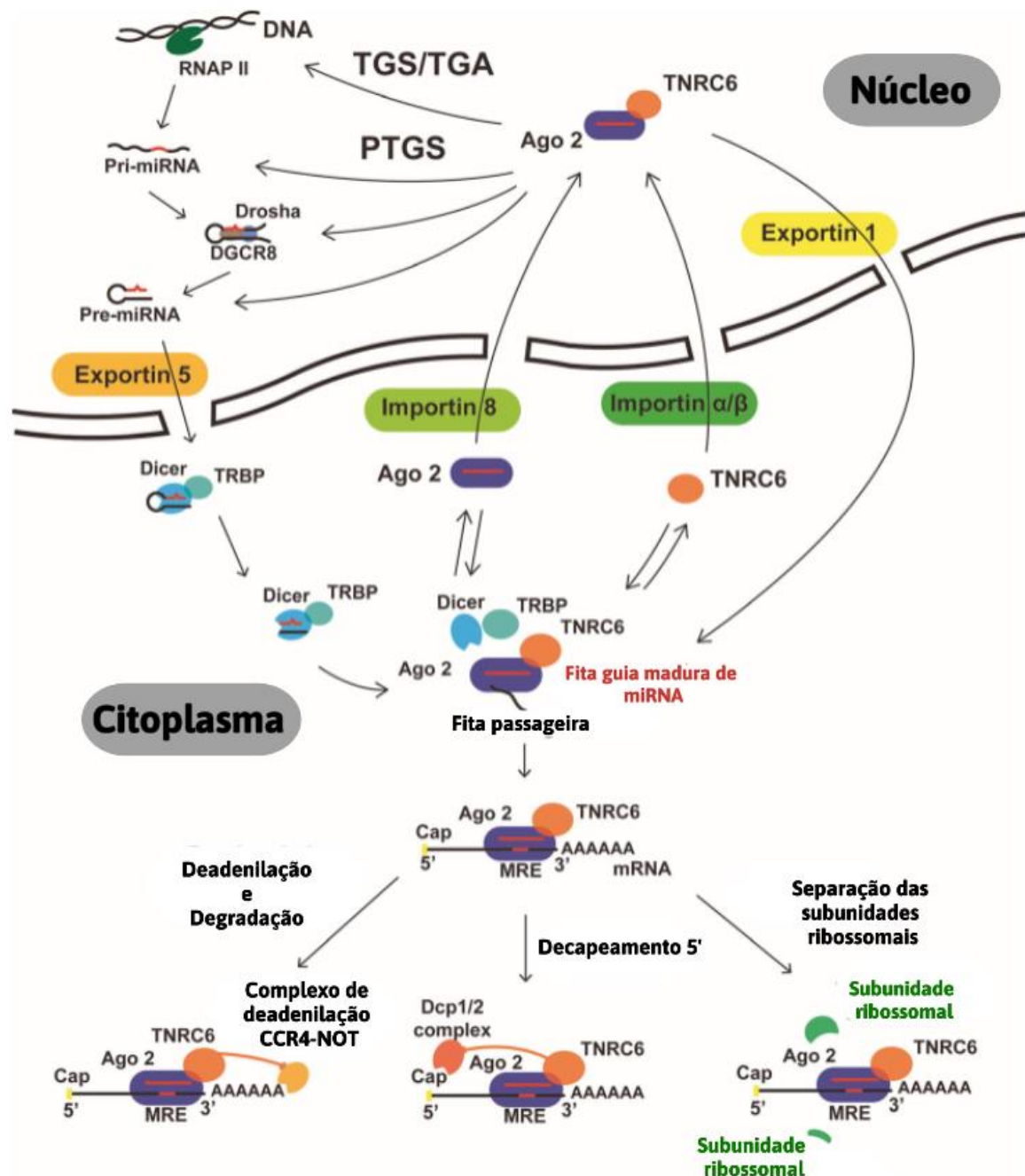
o estágio de desenvolvimento e as condições ambientais (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010) (ØROM; NIELSEN; LUND, 2008).

Os miRNAs também podem ligar-se diretamente a proteínas de ligação a RNA (RBPs) de uma maneira dependente da sequência e impedir que essas proteínas liguem-se aos respectivos alvos de RNA, interferindo assim nas funções regulatórias do RNA. Esse mecanismo é chamado atividade de "isca" (decoy activity) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

5.3.2.2 *Mecanismo de ação nuclear*

Além do mecanismo de ação citoplasmático, evidências indicam que os miRNAs também podem funcionar no núcleo celular (LIU et al., 2018a). A AGO com o miRNA maduro pode ser transportada para o núcleo via Importina 8, e TNRC6 via Importina β . No núcleo, o RISC nuclear é montado e pode atuar tanto na regulação transcricional (TGS e TGA) quanto pós-transcricional (PTGS) (LIU et al., 2018a). Isso pode ocorrer através da interação do miRNA com sequências promotoras de genes ou com RNAs não codificantes associados a promotores, via alteração do estado epigenético por metilação, levando a modificações na cromatina e alterações do transcriptoma (CATALANOTTO; COGONI; ZARDO, 2016).

Figura 5 - Biogênese de miRNA, função no citoplasma e transporte núcleo-citoplasma.



O miRNA maduro funciona tanto no citoplasma quanto no núcleo. O complexo RISC central, a principal maquinaria celular de silenciamento pós-transcricional, é composto por miRNA, Ago2 e TNRC6 (trinucleotide repeat containing 6). O miRNA reconhece e se liga ao elemento de resposta ao miRNA (MRE) no mRNA. No citoplasma, existem três vias pelas quais os miRNAs exercem o silenciamento pós-transcricional: 1) Ago2 recruta TNRC6, que então recruta o complexo deadenilase CCR4-NOT. Este complexo leva à deadenilação e degradação do mRNA. 2) TNRC6 recruta o complexo decapping Dcp1/2, que cliva a cap 5' do mRNA e reduz a estabilidade do mRNA. 3) Com a ligação da Ago2, o mRNA se torna inacessível para o acoplamento e função do ribossomo, o que inibe o processo de tradução. Enquanto isso, Ago2 com o miRNA maduro é importada para o núcleo via Importina 8 e

TNRC6 via Importina β . No núcleo, o RISC é montado e funciona na via transcricional ou pós-transcricional. O RISC nuclear pode ser transportado para o citoplasma via Exportina 1, o que torna o transporte entre o citoplasma e o núcleo bidirecional. Fonte: Adaptado de LIU et al., 2018a.

5.4 MICRORNAS E CÂNCER

No câncer, os miRNAs estão frequentemente desregulados, e os fenótipos tumorais podem ser modificados ao direcionar as respectivas expressões (WU et al., 2024). Os miRNAs apresentam mecanismos versáteis, podendo atuar como promotores ou inibidores do desenvolvimento tumoral. Ao atuar na regulação negativa de um oncogene ou na regulação positiva de um gene onco supressor, um miRNA suprime o desenvolvimento tumoral (WU et al., 2024). O contrário também é verdadeiro, sendo que em células tumorais encontram-se frequentemente desregulados. Essa expressão descontrolada pode estimular a proliferação celular, angiogênese e invasão, além de prevenir a morte celular programada e aumentar a instabilidade genômica (KOOSHKAKI et al., 2020). Essas alterações no transcriptoma e no proteoma promovem um ciclo vicioso, em que a instabilidade genômica resulta em danos adicionais ao DNA, aumentando a probabilidade de mutações que favorecem a progressão tumoral ou a resistência ao tratamento (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

A expressão alterada de miRNAs em pacientes com câncer pode ser atribuída a vários mecanismos. Grande parte dos genes que codificam miRNAs têm sido relatados estar localizados em locais associados ao câncer, onde são translocados ou ativados durante a carcinogênese. Alterações nas atividades das enzimas responsáveis pela biogênese de miRNAs, como *Drosha* e *Dicer*, também podem resultar em níveis anormais de miRNAs. No câncer, variações nos miRNAs circulantes podem ser induzidas por erros transcricionais de pri-miRNA. Esses fatores contribuem para os perfis distintivos de miRNAs observados em diferentes tipos de câncer, tornando-os potenciais biomarcadores para diagnóstico precoce, prognóstico ou previsão de resultados terapêuticos (RUIZ-MANRIQUEZ et al., 2023).

A desregulação da concentração de miRNAs circulantes pode ser resultado da secreção de células tumorais, da atividade alterada da variedade heterogênea de células presentes no microambiente tumoral ou de lisados de células tumorais mortas. No entanto, os mecanismos exatos subjacentes a essa alteração não foram totalmente elucidados. Foi demonstrado que miRNAs derivados de tumores primários

podem ser transferidos para células não malignas no microambiente tumoral durante a progressão do tumor para induzir heterogeneidade celular. Simultaneamente, células não malignas também podem secretar miRNAs para regular a progressão tumoral ou outros componentes micro ambientais. Portanto, embora muitos miRNAs circulantes em pacientes com câncer possam não se originar precisamente de células tumorais, a expressão dessas moléculas reflete diretamente a resposta homeostática do corpo ao câncer (RUIZ-MANRIQUEZ et al., 2023).

5.4.1 MicroRNAs como promotores tumorais

Certos miRNAs são superexpressos em tumores malignos e linhagens celulares tumorais em comparação com o tecido normal, e são responsáveis pela formação e progressão do tumor (WU et al., 2024). Esses pequenos RNAs podem reprimir a expressão de genes supressores de tumor ou outros genes importantes envolvidos na diferenciação celular (WU et al., 2024) (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010). A diminuição dos níveis de supressores tumorais permite que as células malignas proliferem, invadam tecidos adjacentes, promovam a angiogênese e resistam à apoptose (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

5.4.2 MicroRNAs como supressores tumorais

Alguns miRNAs atuam como supressores tumorais ao prevenir a transformação maligna de uma célula sadia (WU et al., 2024). Estes miRNAs supressores tumorais tipicamente reprimem a expressão de oncogenes ou genes envolvidos em processos malignos como proliferação, invasão e metástase (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010). A respectiva perda ou diminuição de função pode levar à desregulação dos respectivos alvos e contribuir para o desenvolvimento tumoral (GARZON; MARCUCCI; CROCE, 2010).

5.5 MICRORNA-144-3P E CÂNCER DE MAMA

O miRNA-144-3p é uma fita madura do microRNA-144, que foi encontrado significativamente desregulado em diversos cânceres. Foi relatado influenciando diferentes vias de processos celulares e moleculares envolvidas no desenvolvimento e progressão tumoral, como angiogênese, transição epitelial-mesenquimal,

proliferação e apoptose (ZHOU et al., 2020). No genoma humano, o gene do microRNA-144 está localizado no cromossomo 17q11.2 a 100 pares de base do gene codificante do miRNA-451 e 40 pares de base do gene codificante do miRNA-4732. A biogênese do miRNA-144-3p é a típica para miRNAs (ZHOU et al., 2020).

Em tumores sólidos o miR-144-3p demonstrou inibir a proliferação de células malignas ao direcionar a expressão pós transcricional de oncogenes ou reguladores do ciclo celular (ZHOU et al., 2020). O mecanismo molecular mais aprofundado do miR-144 no câncer de mama ainda não foi totalmente elucidado, portanto, esta revisão narrativa busca apresentar algumas possibilidades descritas em estudos recentes.

5.5.1 MicroRNA-144-3p e CEP55

Ainda há controvérsias, entretanto, a maioria dos estudos que medem níveis de expressão indicam que há uma expressão reduzida de miRNA-144-3p nos tumores de mama em comparação com tecidos adjacentes saudáveis. Essa redução da expressão do miRNA-144-3p no tecido tumoral da mama pode afetar propriedades da linhagem celular, uma vez que, há indícios que o miR-144-3p suprime a proliferação celular ao inibir a expressão da CEP 55 a proteína do centrômero 55 (YIN et al., 2018). A CEP 55 é uma proteína associada à organização de microtúbulos, é essencial para a citocinese, na separação física do citoplasma das células durante a abscisão, o último passo essencial do processo da divisão celular, que divide irreversivelmente a célula em duas na fase final da mitose e pode ser encontrada no centrômero de células em interfase ou no corpo médio e desempenha um papel importante na regulação do ciclo celular. Há evidências crescentes que em tumores de mama a CEP 55 encontra-se super expressa, possivelmente pela baixa expressão do seu inibidor, o miRNA-144-3p, o que pode favorecer a migração e invasão celular de células malignas (YIN et al., 2018). (MONDAL et al., 2012) (WANG et al., 2016).

Embora o mecanismo não esteja completamente esclarecido, também há evidências de que no corpo médio a proteína codificada pelo gene BRCA2, de mesmo nome, e a CEP 55 interajam com outras proteínas e formem complexos responsáveis pela regulação da citocinese. Nesse sentido, mutações no gene BRCA2 que causam inativação ou perda de função, e que afetam a capacidade da proteína BRCA2 de interagir com a CEP 55, podem levar a defeitos cromossômicos estruturais e numéricos, levando a instabilidade genômica, o que contribui para o desenvolvimento e progressão tumoral (MONDAL et al., 2012) Estes achados corroboram com as

características fundamentais de células malignas “instabilidade genômica e mutação” e “ativação da invasão e metástase”.

5.5.2 MicroRNA-144-3p e ZEB1/2

A transição epitélio-mesênquima é um processo reversível pelo qual células epiteliais perdem as características típicas e transformam-se em células mesenquimais, adquirindo capacidade invasiva e metastática (ZHOU et al., 2020). A transição epitelial-mesenquimal é caracterizada pela migração de células epiteliais malignas que invadem locais distantes do corpo ao transformarem-se em células com fenótipo mesenquimal. Por tratar-se de um processo biológico reversível, as células previamente ativadas pelo processo de transição epitelial mesenquimal frequentemente retornam ao estado epitelial, pelo mecanismo reverso chamado de transição mesenquimal-epitelial (USMAN et al., 2021). Células-tronco tumorais também podem expressar simultaneamente características epiteliais e mesenquimais em um estado híbrido que permite induzir ou reverter a transição epitelial-mesenquimal/mesenquimal-epitelial chamado de plasticidade epitelial-mesenquimal, que as torna metastáveis (USMAN et al., 2021).

A plasticidade epitelial-mesenquimal pode ser categorizada em estágio precoce e tardio, no estágio precoce as células expressam marcadores epiteliais (como citoqueratinas) e mesenquimais (como vimentina), mas são menos aderentes e têm formato arredondado. No estágio tardio, o fenótipo epitelial é suprimido, os marcadores mesenquimais tornam-se mais pronunciados, a forma da célula torna-se alongada e a adesão é completamente perdida (USMAN et al., 2021). A vimentina é consistentemente observada como super expressa durante a metástase do câncer e é reconhecida como um biomarcador de transição epitelial-mesenquimal (USMAN et al., 2021).

Em células células-tronco tumorais, os fatores de transcrição *zinc finger E-box-binding homeobox 1* e *2* (ZEB1 e ZEB2), atuam como reguladores da transição epitelial-mesenquimal, e da invasão do câncer, e promovem a transformação fenotípica das células epiteliais em células mesenquimais (ZHOU et al., 2020). Esses fatores ligam-se a sequências específicas de DNA chamadas *E-boxes*, promotores da E-caderina, uma glicoproteína transmembranar importante que mantém a adesão célula-a-célula em células epiteliais, e reprimem a expressão da proteína para favorecer a migração celular (USMAN et al., 2021). A vimentina é um efector

subsequente aos ZEBs em múltiplas vias de sinalização relacionadas à transição de epitélio para mesênquima (USMAN et al., 2021). O ZEB1 pode ligar-se a sequências de DNA específicas promotoras da vimentina, regulando a transcrição da proteína e a produção de mRNA; o ZEB2 também demonstra regular indiretamente a expressão da vimentina, mas o mecanismo ainda não está completamente elucidado.

No caso do câncer de mama, o miR-144-3p limita a migração e a invasão celular por meio da reversão da transição epitelial-mesenquimal (PAN et al., 2016). Mecanicamente, o miR-144-3p reverte a transição epitelial-mesenquimal ao ligar-se diretamente à região 3'-UTR dos mRNAs de ZEB1 e ZEB2 e suprimir a expressão nos níveis transcricional e pós-transcricional destes promotores da vimentina e supressores da E-caderina (PAN et al., 2016). Entretanto, como há uma baixa expressão do miRNA-144-3p no tecido tumoral da mama, isso pode resultar em aumento da expressão de ZEB1/2, que pode induzir a transição epitelial-mesenquimal e promover o desenvolvimento de metástases pelas linhagens de células-tronco tumorais do tumor da mama. Este mecanismo pode indicar também uma relação entre baixa expressão de miRNA-144-3p, a indução de transição de epitélio para mesênquima por ZEB1/2 e a “ativação da invasão e metástases” em casos clínicos de câncer de mama (PAN et al., 2016).

5.5.3 "Cluster" miRNA-144/451 e p63

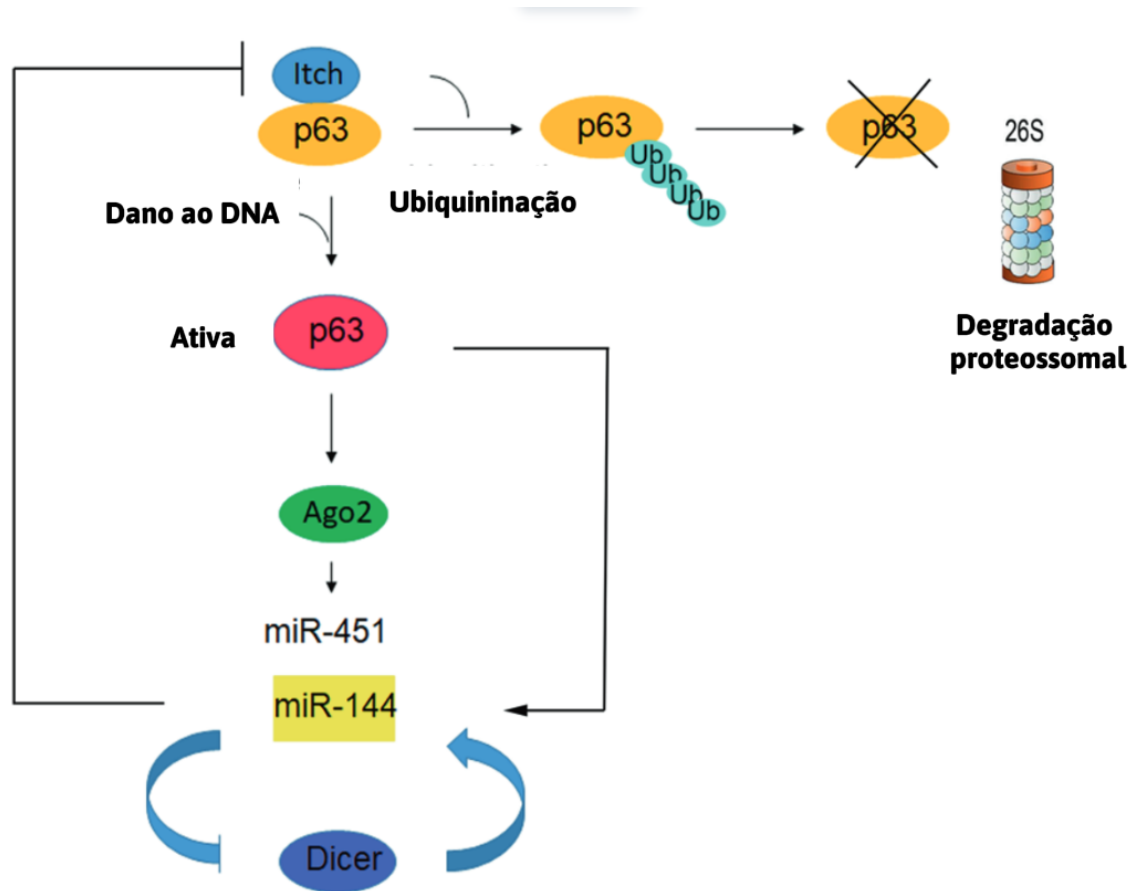
Um "*cluster*" de miRNA é um grupo de dois ou mais genes de miRNA localizados próximos entre si no genoma, geralmente transcritos juntos como uma única molécula de pri-miRNA. Como são co-expressos, esses miRNAs podem agir de forma coordenada para regular genes relacionados, frequentemente participando de vias celulares comuns. Como exemplo menciona-se o *cluster* miR-144/451, que pode apresentar uma relação de "*feedback*" positivo com a proteína p63, um homólogo do supressor tumoral p53, a isoforma TAp63, que tem função pró-apoptótica e pode induzir parada do ciclo celular, apoptose e supressão tumoral (WANG et al., 2022). O miRNA-144 é um regulador fundamental da via Itch-p63-Ago2/Dicer (WANG et al., 2022). A via Itch-p63-Ago2/Dicer começa com a expressão do cluster miR-144/451 o que resulta na transcrição de miR-144 e miR-451. O miR-144-3p é inibidor da expressão do gene Itch que codifica uma ligase E3 de ubiquitina, que tem como função marcar a proteína p63 para degradação via ubiquitinação. Ao inibir a expressão do gene Itch, o miR-144-3p impede a degradação de p63, resultando em teor mais

elevado da proteína p63 na célula. A TAp63, através da ligação direta ao DNA regulatório, ativa o promotor do cluster miR-144/451, o que aumenta a produção de miR-144/451, formando um ciclo de retroalimentação positiva (WU et al., 2024) (WANG et al., 2022).

Além de sua interação com TAp63, o miR-144 exerce um controle regulatório adicional sobre o processamento de miRNAs. O miR-144 tem como alvo regulatório a proteína Dicer, que é essencial para o processamento canônico de miRNAs. Ao reprimir a Dicer, o miR-144 consequentemente inibe o processamento global de miRNAs canônicos. No entanto, de forma intrigante, essa repressão da Dicer pelo miR-144 simultaneamente leva a um aumento na biogênese do miR-451, que faz parte do mesmo *cluster* miR-144/451. Isso sugere um mecanismo de ajuste fino pelo qual o miR-144 pode orquestrar a produção de miRNAs de forma diferencial (WANG et al., 2022).

Mais uma vez o miRNA-144-3p mostra-se um regulador essencial de uma via supressora tumoral, cuja baixa expressão no tecido tumoral, está relacionada a baixa expressão de p63, o que favorece um ciclo vicioso de “instabilidade genômica e mutação”, sobrevivência de células malignas e progressão tumoral.

Figura 6 - Modelo que descreve como o miR-144 atua como um regulador chave do eixo Itch-p63-Ago2/Dicer.



O p63 interage com e ativa a Ago2. O p63 guia fortemente as funções duais da Ago2. O miR-144 ativa o TAp63 ao ter como alvo a Itch, uma E3 ligase do p63. O TAp63 ativa o promotor do *cluster* miR-144/451, formando um *feedback* positivo. O miR-144 tem como alvo a Dicer ao reprimir o processamento canônico global de miRNA e aumenta a biogênese no miR-451. Fonte: Adaptado de WANG et al., 2022.

5.5.4 MicroRNA-144-3p e SOX2

SOX2 é um fator de transcrição envolvido na manutenção da pluripotência das células-tronco, é altamente expresso em tecidos embrionários, enquanto raramente é expresso em células somáticas saudáveis adultas (HOLMES et al., 2020). Em combinação com outros fatores de transcrição, o SOX2 reprograma as células somáticas de volta a um estado pluripotente por meio da repressão de genes específicos de linhagem. Evidências indicam que o SOX2 está relacionado com a regulação da determinação do destino celular, diferenciação, proliferação e transformação maligna (HOLMES et al., 2020). Como fator de transcrição, a proteína

SOX2, possui afinidade suficiente para a ligação direta ao DNA que a permite ativar ou reprimir a expressão de genes-alvo. Um estudo relatou que a SOX2 pode ligar-se diretamente à região promotora do gene transcritor da β -catenina, uma proteína envolvida no desenvolvimento e homeostase dos tecidos, adesão célula-célula e via de sinalização Wnt, uma via relacionada a renovação das células-tronco, e promove a sua transcrição. As vias Wnt/ β -catenina são essenciais para o desenvolvimento da glândula mamária e para o crescimento e disseminação do tumor. A alta expressão de β -catenina está relacionada a metástases através de um efeito regulatório sobre a transição epitelial-mesenquimal em células tumorais da mama (LI et al., 2013). Outros efeitos regulatórios de SOX2 são mediados por meio de interações com proteínas como as citoqueratinas 5/6, o receptor do EGFR, a vimentina, e a ciclina D1, proteína codificada pelo gene CCND1, reguladora do ciclo celular e que é essencial para regular a transição da fase G1 para a fase S (ZHENG et al., 2015). Estudos mostram que SOX2 é frequentemente expresso de forma anormal em uma variedade de tumores malignos. Por exemplo, SOX2 não é expresso em tecidos mamários saudáveis, mas é altamente expresso em tecidos tumorais da mama. Diversos estudos demonstraram que a expressão de SOX2 está associada a aumento do tamanho do tumor, maior grau histológico, metástase para linfonodos e fenótipo triplo negativo altamente agressivo da doença (LIU et al., 2018). Uma maior expressão de SOX2 foi mais comumente observada em carcinomas de mama semelhantes as células basais em comparação com outros subtipos, e que apresentam uma forte correlação com a imunorreatividade de citoqueratinas 5/6, EGFR e vimentina, o que sugere que a SOX2 pode conferir um fenótipo de célula-tronco tumoral às células tumorais. Em consonância, os resultados combinados dessas descobertas revelam que a expressão positiva de SOX2 está significativamente associada ao subtipo tumor de mama *basal-like* (ZHENG et al., 2015).

Além disso, foi descoberto que o SOX2 compartilha sítios de ligação com o miR-144-3p e que é um possível alvo da sua regulação, uma vez que a expressão de SOX2 mostrou-se inversamente associada à expressão de miR-144-3p em estudos que mediram a expressão em tecido tumoral da mama (ZHENG et al., 2015). Inibir a expressão de SOX2 pode reduzir o estado de malignidade do câncer de mama triplo negativo. *In vitro* a inibição de SOX2 pelo miRNA-144-3p reduziu a proliferação, invasão celular e induziu a apoptose. *In vivo*, a inibição de SOX2 também suprimiu a tumorigênese e as metástases (LIU et al., 2018). Estes achados reforçam a importância do miRNA-144-3p na via da regulação da supressão tumoral e

corroboram com achados anteriores relacionados à diminuição da sua expressão no tecido tumoral.

5.6 MICRORNAS COMO BIOMARCADORES

A heterogeneidade tumoral, a amostragem invasiva por biópsia, o processamento e o armazenamento do tecido são limitações sérias da análise histopatológica por imuno histoquímica, que podem prejudicar a subtipagem e até mesmo a precisão diagnóstica, levando a desfechos piores. Nesse contexto, uma ferramenta molecular complementar que auxilia no diagnóstico, de forma menos invasiva, é de grande valor. Assim, existe uma necessidade de novos biomarcadores preditivos mais eficazes, que facilitem a classificação biomolecular do câncer de mama e que possam ser utilizados na prática clínica rotineira como parâmetros que possam auxiliar o diagnóstico precoce, para prever o desfecho clínico, calcular a sobrevida do paciente, analisar a resposta à intervenção terapêutica, além de fornecer informações sobre terapias personalizadas (FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP, 2016) (DA SILVA et al., 2020).

Como apresentado, muitos marcadores prognósticos tradicionais de câncer de mama estão disponíveis como idade no diagnóstico, tamanho do tumor, status do receptor hormonal, grau do tumor. Entretanto, estes marcadores apresentam baixa sensibilidade para detecção de tumores em estágios iniciais, para diferenciação dos tipos de tumor e grau de agressividade, consequentemente, novos biomarcadores complementares mostram-se necessários. Os níveis séricos do antígeno CA 15-3 são atualmente o biomarcador empregado para o monitoramento do tumor. No entanto, as medições de CA 15-3 não são úteis para o diagnóstico, especialmente em pacientes com câncer em estágio inicial, nem para a tomada de decisões terapêuticas (LEE et al., 2023). Além disso, como a maioria dos biomarcadores atuais é baseada em proteínas, as variações pós transcricionais, a complexidade da composição proteica das amostras biológicas, a baixa concentração de proteínas de interesse em fluídos e a dificuldade de desenvolver agentes de captura de alta afinidade são desafios que tornam a descoberta de novos biomarcadores baseados em proteínas, com sensibilidade e especificidade diagnósticas adequadas, uma tarefa difícil, cara e demorada.

Para superar os desafios das técnicas tradicionalmente utilizadas na identificação e validação de biomarcadores clínicos, foram propostas análises

baseadas no uso de miRNAs em vesículas extracelulares por biopsias líquidas como biomarcadores. Uma vez que, esta abordagem pode oferecer diversas vantagens em comparação com a coleta de biópsias de tecido de câncer de mama, por serem menos invasivas, permitem rastrear a heterogeneidade, verificar a presença de metástases e acompanhar a progressão do câncer em tempo real, além de monitorar a resposta do paciente ao tratamento. Haja vista que, a expressão de miRNAs, como o miRNA-144-3p, pode ser identificada no sangue antes de ser detectada no tecido (LEE et al., 2023).

A comunicação parácrina célula-célula dependente de miRNA extracelular e tem sido investigada, uma vez que os miRNAs existem em uma forma estável e livre de células em fluidos corporais e outros ambientes extracelulares, incluindo plasma, soro, urina e saliva. Alterações na expressão de miRNAs em pacientes com câncer pode ser atribuída a vários mecanismos. Grande parte dos genes que codificam miRNAs têm sido relatados estar localizados em locais associados ao câncer, onde são translocados ou ativados durante a carcinogênese. Alterações nas atividades das enzimas responsáveis pela biogênese de miRNAs, como *Drosha* e *Dicer*, também podem resultar em graus anormais de expressão de miRNAs. No câncer, variações nos miRNAs circulantes podem ser induzidas por erros transcricionais de pri-miRNA. Esses fatores contribuem para os perfis distintivos de miRNAs observados em diferentes tipos de câncer, tornando-os potenciais biomarcadores para diagnóstico precoce, prognóstico ou previsão de resultados terapêuticos (RUIZ-MANRIQUEZ et al., 2023). Além disso, foi descoberto que a distribuição de miRNAs em exossomos é maior do que em suas células de origem. No câncer de mama o miRNA-144-3p tem sido relatado estar menos expresso do que em tecidos saudáveis.

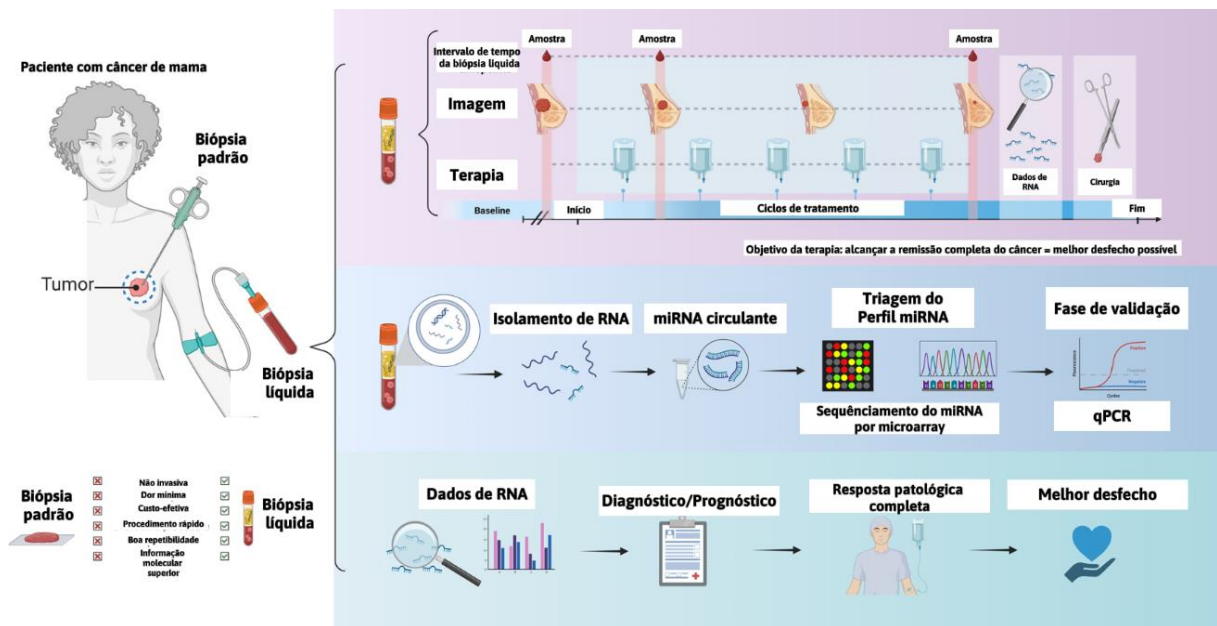
Para serem secretados para fora das células, os miRNAs podem ser carregados em lipoproteínas de alta densidade, empacotados em exossomos (uma forma de microvesículas derivadas de endossomos que se fundem com a membrana plasmática), ou ligados à proteínas ligadoras de RNA como AGO ou NPM1, *nucleophosmin 1*, uma proteína que desempenha diversas funções. Proteína esta fundamental para a biogênese do ribossomo, regulação da integridade do genoma e regulação das vias de supressão tumoral. O encapsulamento em exossomos ou a formação de complexos com proteínas é necessário para prevenir a degradação dos miRNAs por RNases e aumentar as respectivas estabilidades nos fluidos corporais (HO; CLARK; LE, 2022).

O mecanismo pelo qual os miRNAs são selecionados para os exossomos ainda não está completamente elucidado. Entretanto, especula-se que sequências específicas de bases presentes em certos miRNAs podem direcionar a incorporação destes ácidos nucleicos em exossomos, enquanto algumas enzimas ou outras proteínas também podem controlar essa incorporação de miRNAs exossômicos, de uma maneira independente da sequência de miRNA (HO; CLARK; LE, 2022) (ZHANG et al., 2015). Nesse sentido, alguns mecanismos potenciais têm sido estudados e podem estar envolvidos. Uma via dependente de esfingomielinase neutra 2 (nSMase2), uma vez que há relato de uma relação direta entre nível de atividade da nSMase2 com o nível de miRNAs exossômicos (KOSAKA et al., 2013). A segunda via é a dependente de hnRNPs sumoilados, na qual a sequência GGAG na extremidade 3' do miRNA é reconhecida pela proteína da família hnRNP sumoilada e leva miRNAs específicos a serem empacotados em exossomos. Outro mecanismo similar também foi relatado, dependente da sequência da região 3' do miRNA, na qual miRNAs com mais poli(U) do que poli(A) na extremidade 3' são preferencialmente selecionados para exossomos (HO; CLARK; LE, 2022) (ZHANG et al., 2015). E por fim, uma via relacionada ao miRISC foi relatada como tendo função no processo de liberação de miRNA em exossomos, em que é muito provável que o miRISC seja inicialmente direcionado aos corpos de processamento, os chamados corpos P, focos citoplasmáticos que complexificam várias enzimas envolvidas na degradação e síntese de RNA dentro de uma célula, após ligarem-se ao respectivo mRNA alvo, uma vez que a AGO interage com as proteínas Dcp1 e Dcp2 dos corpos P. Os corpos P então fundem-se com os endossomos tardios e liberam exossomos contendo miRNA (HO; CLARK; LE, 2022) (ZHANG et al., 2015) (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). Entretanto, como mencionado, trata-se de um tema ainda não totalmente elucidado e em frequente atualização.

Como as proteínas dos exossomos controlam o conteúdo das vesículas, para manter a oncogênese e metástases, as células malignas tendem a sequestrar miRNAs supressores de tumor em vesículas e carregá-los em exossomos. Isso significa uma possível ligação entre a perda de miRNA supressor de tumor na célula maligna e a secreção de exossomos. Já que, a superexpressão de miRNAs supressores de tumor em células estromais desencadeia a respectiva liberação exossômica. No entanto, esse mecanismo de regulação não está presente apenas em células malignas (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). MiRNAs supressores de tumor são preferencialmente sequestrados por vesículas e secretados como miRNAs

exossômicos, não apenas inibindo o crescimento de células no ambiente circundante, mas também atingindo células a longa distância. Os perfis de miRNA em exossomos podem nos permitir analisar os grupos de células-alvo e possíveis funções (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). Além de carregar miRNAs supressores de tumor, a função dos exossomos também está envolvida na transmissão intercelular de miRNAs com atuação oncogênica. Por exemplo, em muitas células malignas, a expressão de miRNAs oncogênicos é regulada positivamente, cuja secreção é via exossomos, promovendo a progressão tumoral e a metástase. No entanto, já é descrito na literatura que os exossomos não incluem apenas um tipo de miRNA e que, de fato, um amplo espectro de miRNAs é simultaneamente transportado via exossomos. Portanto, o efeito indutor dos exossomos depende em grande parte da mistura de miRNAs presentes (YU; ODENTHAL; FRIES, 2016). Os miRNAs exossômicos podem existir de forma estável em fluidos corporais de pacientes como sangue, urina e outros, e pela presença de proteínas de superfície específicas, os exossomos podem refletir o respectivo tecido ou célula de origem (ZHANG et al., 2015). Além disso, a concentração e a composição dos miRNAs exossômicos circulantes diferem entre indivíduos saudáveis e pacientes com câncer. Dessa forma, os miRNAs exossômicos mostram um potencial para uso como biomarcadores não invasivos para indicar estados de doença. Numerosos métodos moleculares têm sido utilizados para detectar e quantificar miRNAs, incluindo *Northern blot*, RT-PCR em tempo real, PCR digital e microRNA *microarray* (ZHANG et al., 2015). O miRNA-144-3p, foi relatado atuando em diversas vias de supressão tumoral, e estudos que fazem a dosagem em sangue tendem a diferir de estudos que fazem a dosagem em tecido de câncer de mama, o que poderia ser explicado pela preferência das vesículas exossomais no sequestro de miRNAs supressores tumorais, entretanto, não existem evidências conclusivas que confirmem esta teoria.

Figura 7 - Representação esquemática da utilidade de miRNAs circulantes como biomarcadores para diagnóstico/prognóstico de câncer de mama em resposta à terapia neoadjuvante.



Infelizmente, embora inúmeros biomarcadores de miRNA circulantes tenham sido verificados em diferentes tipos de câncer, até o momento eles falharam em entrar na clínica. As razões para essa falha podem ser atribuídas ao uso de diferentes plataformas de medição, à estratégia de normalização empregada e a outros fatores pré-analíticos como raça, idade, sexo, tipo de amostra, manuseio e método de processamento da amostra, resultando em considerável inconsistência e irreprodutibilidade entre os estudos. Para desenvolver biomarcadores baseados em miRNAs circulantes para uso clínico esses desafios ainda devem ser superados. Fonte: Adaptado de RUIZ-MANRIQUEZ et al., 2023.

5.7 TRATAMENTO BASEADO EM MIRNAS

A utilização de miRNAs no tratamento também é uma alternativa promissora, crescentes evidências indicam que a entrega de miRNAs supressores de tumor, como o miRNA-144-3p, ou de inibidores de miRNAs oncogênicos possui importantes efeitos terapêuticos em modelos pré-clínicos de câncer de mama. Nesse sentido, pesquisas envolvendo terapia com miRNAs têm sido voltadas para desenvolvimento de sistemas de entrega eficientes e não virais nos alvos desejados utilizando a nanotecnologia para modificar a composição da superfície de nanopartículas carreadoras de miRNAs e têm demonstrado resultados promissores a serem usados para atingir propriedades das células-tronco tumorais da mama (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021).

Entretanto existem alguns desafios a serem superados, o miRNA-144-3p tem sido estudado e demonstrou em agir em múltiplas vias de sinalização celular de uma

mesma célula e pode haver efeitos indesejados fora do alvo (“*off-targets*”), ou seja, a regulação não intencional de mRNAs através de uma correspondência parcial de sequência entre o miRNA e alvos desconhecidos (KHAN et al., 2009) (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021). Além disso, como o mecanismo de ação do miRNA está relacionado a sua capacidade de ligar-se a mRNAs específicos através de pareamento de bases, e o perfil de expressão de mRNAs varia entre diferentes tipos celulares, mesmo que o miRNA-144-3p se ligue a mRNAs em diferentes células, a função e o resultado da regulação podem variar, como tem sido demonstrado em alguns estudos (HUMPHRIES; WANG; YANG, 2021).

Além dos efeitos indesejados “*off-targets*”, outra problemática inesperada tem sido relatada envolvendo a utilização de miméticos de miRNAs, e a desregulação de genes regulados por miRNAs. Nesses estudos, administração intracelular de miméticos de miRNAs projetados para inibir a expressão pós transcricional de genes específicos, e inibidores de miRNA introduzidos para testar os efeitos biológicos dos miRNAs, afetou a regulação da expressão dos genes previstos para estarem sob regulação do miRNA endógeno levando a sua superexpressão tanto a nível de mRNA quanto de proteína codificada. Esse fenômeno contradiz a expectativa principal de que esses miRNAs induziriam a regulação da expressão gênica de seus alvos (KHAN et al., 2009). A hipótese mais plausível proposta para explicar essa regulação positiva inesperada é o efeito de saturação e competição entre os miméticos miRNAs administrados e o *pool* endógeno de miRNAs da célula pelos sítios de ligação da maquinaria intracelular de processamento de RNA, como o complexo RISC. Essa competição reduziria a disponibilidade de RISC para os miRNAs endógenos, diminuindo a repressão de seus mRNAs alvo e, conseqüentemente, levando à sua superexpressão. Embora o mecanismo preciso desse efeito de competição ainda precise ser estabelecido, a significância estatística das mudanças observadas nos níveis de transcrito corroborou com a hipótese (KHAN et al., 2009) (JIN et al., 2015).

Além dos problemas apresentados, respostas imunes indesejadas e alterações substanciais no transcriptoma, que vão além dos efeitos de regulação do miRNA que se pretende mimetizar, levantam preocupações significativas sobre a precisão dos resultados de pesquisa e a segurança de futuras aplicações clínicas envolvendo miméticos de miRNAs (JIN et al., 2015). Relatos sugerem que a administração de miméticos de miRNA pode induzir uma resposta inflamatória por meio do reconhecimento de RNAs de fita dupla ou de fitas simples modificadas contidas nas preparações de miméticos de miRNA e resultar em uma regulação

significativa de centenas de genes, muitos dos quais não são alvos diretos do mimético de miRNA introduzido, mas sim são modulados por vias de resposta ao interferon. Nesse sentido, a resposta imune inata, mediada por vias como a de interferon tipo I, pode mascarar os efeitos regulatórios reais do miRNA mimetizado, levando a falsas conclusões. Esses "*off-targets*" inflamatórios podem confundir a interpretação dos resultados de experimentos de ganho de função de miRNA, tornando difícil diferenciar os efeitos específicos do miRNA daqueles induzidos pela resposta imune ou pela saturação da maquinaria celular. Essa complexidade sugere que estudos baseados apenas na introdução de miméticos podem levar a conclusões precipitadas sobre as funções biológicas de miRNAs em contextos fisiológicos e patológicos (JIN et al., 2015).

As implicações práticas dessas descobertas são significativas. Primeiramente, como a medição de mudanças na expressão de mRNA após perturbações de miRNA é uma forma padrão de validar métodos de predição de alvos de miRNA, deve-se levar em consideração o efeito de saturação e respostas imunes indesejadas. Além disso, respostas imunes indesejadas e a competição entre miRNAs sugere uma reavaliação do próprio conceito de "mRNA alvo". Se um mRNA pode ser alvo de regulação por um miRNA em certas condições, mas essa regulação é afetada em outras condições devido à competição ou resposta imune, em um ambiente com alta concentração de miméticos de miRNAs exógenos ou com mudanças nos perfis de miRNAs endógenos em doenças, então o status de "alvo" de um mRNA torna-se condicional e dinâmico, não absoluto. Isso significa que a simples presença de um sítio de ligação não garante a regulação em todas as circunstâncias, desafiando a ideia tradicional de um alvo fixo (KHAN et al., 2009). Essa problemática levanta a necessidade de uma compreensão mais aprofundada da cinética dos eventos de ligação e das concentrações dos componentes da maquinaria de miRNA na célula para calibrar e evitar efeitos indesejados nas aplicações de genômica funcional e, criticamente, no desenvolvimento de novas terapêuticas com miRNAs (KHAN et al., 2009).

CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo esclarecer a importância do miRNA-144-3p no câncer de mama triplo negativo, caracterizar os miRNAs, abordando processo de síntese e interação do miRNA-144-3p na regulação da expressão gênica pós-transcricional, caracterizar os subtipos de câncer de mama, com foco no subtipo triplo negativo e avaliar aplicabilidade do miRNA-144-3p como biomarcador e possível alvo terapêutico.

Ao longo da revisão, foi possível adquirir embasamento sobre como o miRNA-144-3p está envolvido em diversas vias relacionadas a aquisição de características fundamentais do câncer de mama e mecanismos envolvidos na tumorigênese e aquisição destas características. Por exemplo, na aquisição de fenótipos de células-tronco tumorais por parte das células malignas da doença como resultado da inibição da atividade do miRNA-144-3p que está envolvido em diversas vias de supressão tumoral. Estas descobertas têm relevância, uma vez que os marcadores clássicos têm baixa sensibilidade para detecção de tumores em estágios iniciais, diferenciação dos tipos de tumor e grau de agressividade, particularmente no manejo do câncer de mama triplo negativo, por ser mais agressivo do que outros tipos de câncer de mama, com maior probabilidade de metástases, recorrência, e o diagnóstico precoce ser vital para melhorar as chances de sobrevivência dos pacientes.

Nesse sentido, entende-se que pesquisas futuras possam esclarecer aspectos do tema que ainda encontram-se inconclusivos, como a viabilidade como biomarcador e possibilidade de um novo alvo terapêutico culminando em resultados promissores no diagnóstico e tratamento do câncer de mama.

REFERÊNCIAS

AKRAM, Muhammad et al. **Awareness and current knowledge of breast cancer**. *Biological Research*, Santiago, v. 50, p. 1-23, 2017.

AMBROS, Victor. **The functions of animal microRNAs**. *Nature*, London, v. 431, n. 7006, p. 350-355, 2004.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **History of Cancer: Modern Knowledge and Cancer Causes**. Atlanta, GA: *American Cancer Society*, 2014. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/understanding-cancer/history-of-cancer/modern-knowledge-and-cancer-causes.html>. Acesso em: 8 jun. 2025.

AN, Congjing et al. **LINC00662 enhances cell progression and stemness in breast cancer by MiR-144-3p/SOX2 axis**. *Cancer Cell International*, London, v. 22, n. 1, p. 184, 2022.

BARTEL, David P. **Metazoan micrornas**. *Cell*, Cambridge, v. 173, n. 1, p. 20-51, 2018.

BROOKS, Michael D.; BURNES, Monika L.; WICHA, Max S. **Therapeutic implications of cellular heterogeneity and plasticity in breast cancer**. *Cell Stem Cell*, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 260-271, 2015.

BURSTEIN, Matthew D. et al. **Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer**. *Clinical Cancer Research*, Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 1688-1698, 2015.

CATALANOTTO, Caterina; COGONI, Carlo; ZARDO, Giuseppe. **MicroRNA in control of gene expression: an overview of nuclear functions**. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 17, n. 10, p. 1712, 2016.

DAI, Jie et al. **Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy**. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, London, v. 5, n. 1, p. 145, 2020.

DAI, Xiaofeng et al. **Cancer hallmarks, biomarkers and breast cancer molecular subtypes**. *Journal of Cancer*, Auckland, v. 7, n. 10, p. 1281, 2016.

DA SILVA, Jesse Lopes et al. **Triple negative breast cancer: A thorough review of biomarkers**. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, Amsterdam, v. 145, p. 102855, 2020.

DA SILVA, Jesse Lopes et al. **Triple-negative breast cancer: assessing the role of immunohistochemical biomarkers on neoadjuvant treatment**. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, Auckland, p. 31-44, 2021.

DIENER, Caroline; KELLER, Andreas; MEESE, Eckart. **Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic**. *Trends in Genetics*, Amsterdam, v. 38, n. 6, p. 613-626, 2022.

FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP. **BEST (Biomarkers, EndpointS, and Other Tools) Resource**. *Silver Spring: Food and Drug Administration (US)*, 2016. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>. Acesso em: 8 jun. 2025.

GARZON, Ramiro; MARCUCCI, Guido; CROCE, Carlo M. **Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges**. *Nature Reviews Drug Discovery*, London, v. 9, n. 10, p. 775-789, 2010.

GOLDHIRSCH, Aron et al. **Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert**

Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*, Oxford, v. 24, n. 9, p. 2206-2223, 2013.

GREAVES, Mel; MALEY, Carlo C. **Clonal evolution in cancer.** *Nature*, London, v. 481, n. 7381, p. 306-313, 2012.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. **Hallmarks of cancer: the next generation.** *Cell*, Cambridge, v. 144, n. 5, p. 646-74, 4 mar. 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

HARBECK, N.; GNANT, M. **Breast cancer.** *Lancet*, London, v. 389, n. 10074, p. 1134-1150, 18 mar. 2017. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31891-8.

HO, Phuong TB; CLARK, Ian M.; LE, Linh TT. **MicroRNA-based diagnosis and therapy.** *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 23, n. 13, p. 7167, 2022.

HOLMES, Z. E. et al. **The Sox2 transcription factor binds RNA.** *Nature Communications*, London, v. 11, n. 1, p. 1805, 14 abr. 2020. DOI: 10.1038/s41467-020-15571-8.

HUMPHRIES, B.; WANG, Z.; YANG, C. **MicroRNA Regulation of Breast Cancer Stemness.** *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 22, n. 7, p. 3756, 4 abr. 2021. DOI: 10.3390/ijms22073756.

ISAAC, Roi et al. **Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism.** *Cell Metabolism*, v. 33, n. 9, p. 1744-1762, 2021. DOI: 10.1016/j.câncer de mamaet.2021.08.006.

JIN, Hyun Yong et al. **Transfection of microRNA mimics should be used with caution.** *Frontiers in Genetics*, v. 6, p. 340, 2 dez. 2015.

JORDAN-ALEJANDRE, Euclides et al. **Potential miRNA use as a biomarker: from breast cancer diagnosis to metastasis.** *Cells*, Basel, v. 12, n. 4, p. 525, 2023.

KATSURA, Chie et al. **Breast cancer: presentation, investigation and management.** *British Journal of Hospital Medicine*, London, v. 83, n. 2, p. 1-7, 2022.

KHAN, Aly A. et al. **Transfection of small RNAs globally perturbs gene regulation by endogenous microRNAs.** *Nature biotechnology*, v. 27, n. 6, p. 549-555, 2009.

KONTOMANOLIS, Emmanuel N. et al. **Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review.** *Anticancer Research*, Attiki, v. 40, n. 11, p. 6009-6015, 2020.

KOOSHKAKI, Omid et al. **MiR-144: a new possible therapeutic target and diagnostic/prognostic tool in cancers.** *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 21, n. 7, p. 2578, 2020.

KOSAKA, N. et al. **Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)-dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis.** *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 288, n. 15, p. 10849-59, 12 abr. 2013. DOI: 10.1074/jbc.M112.446831.

KWON, Sun Young et al. **Complexity in regulation of microRNA machinery components in invasive breast carcinoma.** *Pathology & Oncology Research*, Budapest, v. 20, p. 697-705, 2014.

LEE, Yujin et al. **Recent advances of small extracellular vesicle biomarkers in breast cancer diagnosis and prognosis.** *Molecular Cancer*, London, v. 22, n. 1, p. 33, 2023.

LEHMANN, Brian D. et al. **Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies.** *The Journal of Clinical Investigation*, Ann Arbor, v. 121, n. 7, p. 2750-2767, 2011.

LEHMANN, Brian D. et al. **Refinement of triple-negative breast cancer molecular subtypes: implications for neoadjuvant chemotherapy selection.** *PloS One*, San Francisco, v. 11, n. 6, p. e0157368, 2016.

LI, X. et al. **SOX2 Promotes Tumor Metastasis by Stimulating Epithelial-to-Mesenchymal Transition via Regulation of WNT/ β -catenin signal network.** *Cancer Letters*, Limerick, v. 336, n. 2, p. 379-89, 19 ago. 2013. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.03.027.

LIU, Hongyu et al. **Nuclear functions of mammalian MicroRNAs in gene regulation, immunity and cancer.** *Molecular Cancer*, London, v. 17, p. 1-14, 2018a.

LIU, P. et al. **SOX2 Promotes Cell Proliferation and Metastasis in Triple Negative Breast Cancer.** *Frontiers in Pharmacology*, Lausanne, v. 9, p. 942, 21 ago. 2018b. DOI: 10.3389/fphar.2018.00942.

MCDONALD, Elizabeth S. et al. **Clinical diagnosis and management of breast cancer.** *Journal of Nuclear Medicine*, Reston, v. 57, n. Suppl. 1, p. 9S-16S, 2016.

MENON, Amrutha et al. **miRNA: a promising therapeutic target in cancer.** *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 23, n. 19, p. 11502, 2022.

MISHRA, Shivangi; YADAV, Tanuja; RANI, Vibha. **Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics**. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, Amsterdam, v. 98, p. 12-23, 2016.

MONDAL, Gourish et al. **BRCA2 localization to the midbody by filamin A regulates cep55 signaling and completion of cytokinesis**. *Developmental Cell*, Cambridge, v. 23, n. 1, p. 137-152, 2012.

NISHIMURA, Tamiko et al. **The eIF4E-binding protein 4E-T is a component of the mRNA decay machinery that bridges the 5' and 3' termini of target mRNAs**. *Cell Reports*, Cambridge, v. 11, n. 9, p. 1425-1436, 2015.

NUSSBACHER, Julia K.; YEO, Gene W. **Systematic discovery of RNA binding proteins that regulate microRNA levels**. *Molecular Cell*, Cambridge, v. 69, n. 6, p. 1005-1016.e7, 2018.

ØROM, Ulf Andersson; NIELSEN, Finn Cilius; LUND, Anders H. **MicroRNA-10a binds the 5' UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation**. *Molecular Cell*, Cambridge, v. 30, n. 4, p. 460-471, 2008.

OTMANI, K.; LEWALLE, P. **Tumor Suppressor miRNA in Cancer Cells and the Tumor Microenvironment: Mechanism of Deregulation and Clinical Implications**. *Frontiers in Oncology*, Lausanne, v. 11, p. 708765, 15 out. 2021. DOI: 10.3389/fonc.2021.708765.

PAN, Yuliang et al. **miR-144 functions as a tumor suppressor in breast cancer through inhibiting ZEB1/2-mediated epithelial mesenchymal transition process**. *OncoTargets and Therapy*, Auckland, p. 6247-6255, 2016.

ROMA-RODRIGUES, Catarina et al. **Targeting tumor microenvironment for cancer therapy**. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 20, n. 4, p. 840, 2019.

RUIZ-MANRIQUEZ, Luis M. et al. **Exploring the potential role of circulating microRNAs as biomarkers for predicting clinical response to neoadjuvant therapy in breast cancer**. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 24, n. 12, p. 9984, 2023.

SENGA, Sasi S.; GROSE, Richard P. **Hallmarks of cancer—the New Testament**. *Advances in Surgical and Medical Specialties*, New York, p. 1239-1279, 2023.

SHURTLEFF, Matthew J. et al. **Y-box protein 1 is required to sort microRNAs into exosomes in cells and in a cell-free reaction**. *eLife*, v. 5, e19276, 2016. DOI: 10.7554/eLife.19276

USMAN, Saima et al. **Vimentin is at the heart of epithelial mesenchymal transition (EMT) mediated metastasis**. *Cancers*, Basel, v. 13, n. 19, p. 4985, 2021.

WANG, Benfan et al. **p63, a key regulator of Ago2, links to the microRNA-144 cluster**. *Cell Death & Disease*, London, v. 13, n. 4, p. 397, 2022.

WANG, Li-Hui et al. **Loss of tumor suppressor gene function in human cancer: an overview**. *Cellular Physiology and Biochemistry*, Basel, v. 51, n. 6, p. 2647-2693, 2019.

WANG, Ye et al. **Lentivirus-mediated knockdown of CEP55 suppresses cell proliferation of breast cancer cells**. *Bioscience Trends*, Tokyo, v. 10, n. 1, p. 67-73, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Breast cancer**. Geneva: WHO, 2025.
Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>. Acesso em: 8 jun. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. Geneva: WHO, 2025.
Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. Acesso em: 8 jun. 2025.

WU, Hong Helena et al. **How MicroRNAs Command the Battle against Cancer**. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 25, n. 11, p. 5865, 2024.

XIONG, Xin et al. **Breast cancer: pathogenesis and treatments**. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, London, v. 10, n. 1, p. 49, 2025.

YIN, Yuanqin et al. **MiR-144 suppresses proliferation, invasion, and migration of breast cancer cells through inhibiting CEP55**. *Cancer Biology & Therapy*, Philadelphia, v. 19, n. 4, p. 306-315, 2018.

YU, X.; ODENTHAL, M.; FRIES, J. W. **Exosomes as miRNA Carriers: Formation-Function-Future**. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 17, n. 12, p. 2028, 2 dez. 2016. DOI: 10.3390/ijms17122028.

ZHANG, Jian et al. **Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function**. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, Beijing, v. 13, n. 1, p. 17-24, 2015.

ZHANG, Peijing; SUN, Yutong; MA, Li. **ZEB1: at the crossroads of epithelial-mesenchymal transition, metastasis and therapy resistance**. *Cell Cycle*, Abingdon, v. 14, n. 4, p. 481-487, 2015.

ZHANG, Shaosen et al. **Tumor initiation and early tumorigenesis: molecular mechanisms and interventional targets.** *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 9, n. 1, p. 149, 2024. DOI: 10.1038/s41392-024 01889-1.

ZHENG, Y. et al. **Clinicopathological significance of Sox2 expression in patients with breast cancer: a meta-analysis.** *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, Nanchang, v. 8, n. 12, p. 22382-92, 15 dez. 2015.

ZHOU, Meng et al. **MicroRNA-144: a novel biological marker and potential therapeutic target in human solid cancers.** *Journal of Cancer*, Auckland, v. 11, n. 22, p. 6716, 2020.